

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

ENQUÊTE SUR LES FOYERS DE DISTOMATOSE HÉPATIQUE DE LA VALLÉE DU LOT

I. — ÉPIDÉMIOLOGIE

par R. DESCHIENS, Y. LE CORROLLER et R. MANDOUL (*).

*(Institut Pasteur, Service de Parasitologie,
et Faculté de Médecine de Bordeaux, Laboratoire de Parasitologie)*

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LA DISTOMATOSE HÉPATIQUE EN FRANCE

Les distomatoses hépatiques, maladies parasitaires, dues à l'infestation par des vers trématodes, les douves, s'observent, en France, chez l'homme, de façon beaucoup plus fréquente que l'on a cru longtemps. D'Allaines, Lavier et Gandrille (1942 [1]), Sédallian, Maral et Perrin (1949 [8]), Lavier (1950 [6]), Aris, Deschiens, Duizabo, Flye Sainte-Marie, Lapeyre et Sauchet (1956, 1958 [2, 4]), Coudert et Triozon (1957 [3]), Kissel (1957 [5]), en particulier, ont rapporté des faits épidémiologiques et cliniques qui établissent péremptoirement cette notion.

(*) Manuscrit reçu le 13 février 1961.

La distomatose hépatique autochtone est observée chaque année en France, le plus souvent à la fin de l'automne (1) et en hiver, sous la forme d'incidents épidémiques quasi familiaux ou atteignant de petites collectivités et ayant, dans la règle, pour origine, la consommation de cresson cru récolté dans des cressonnières contaminées, ou même, de légumes maraîchers consommés crus, comme les salades et les radis, au cours de l'été ou de l'automne. Ces incidents épidémiologiques peuvent, dans des régions aux hivers relativement doux comme le sud-ouest de la France, où la récolte du cresson peut se faire pratiquement de novembre à mai, apparaître sur un fond d'endémie de distomatose.

Les provinces françaises où la distomatose sévit plus particulièrement se situent au sud d'une ligne ondulante passant entre les 46° et 48° degrés de latitude nord et suivant approximativement la basse vallée de la Loire. Ce sont : le Berry (Cher), le Nivernais (Nièvre), la Bourgogne (Côte-d'Or, Saône-et-Loire, Ain), le Bourbonnais (Allier, Puy-de-Dôme, Cantal), le Lyonnais (Rhône, Loire), le Limousin (Corrèze), le Périgord (Dordogne), l'Angoumois (Charentes), la Guyenne et la Gascogne (Gironde, Landes, Lot, Lot-et-Garonne, Aveyron, Haute-Garonne), le Béarn (Basses-Pyrénées), le Languedoc (Hérault), la Provence (Bouches-du-Rhône). Cependant, au nord de la Loire, des foyers de distomatose très actifs ont été identifiés en Bretagne (Loire-Atlantique, Finistère, Morbihan), dans le Maine (Mayenne, Maine-et-Loire), en Normandie (Calvados), en Flandre (Nord), en Champagne (Haute-Marne), en Lorraine (Meurthe-et-Moselle, Vosges), en Franche-Comté (Haute-Saône, Doubs) (fig. 1).

La distomatose hépatique est une zoonose dont les réservoirs de virus principaux sont les bovins et les ovins ; le porc et le cheval ne sont que rarement infectés par *F. hepatica*. Le risque de contamination à partir des animaux sauvages sensibles à la parasitose (cerfs, sangliers, chevreuils, bouquetins, chamois, isards, lièvres, lapins) est pratiquement négligeable.

En France, les quatre espèces principales de limnées permettant l'évolution du ver sont : *Limnea truncatula*, *L. stagnalis*, *L. palustris* et *L. peregra* ; on les rencontre dans les vallées du Lot et de la Garonne, territoire de notre prospection.

L'infestation de l'homme par la petite douve *Dicrocoelium dentriticum*, surtout parasite des voies biliaires du mouton, est relativement très rare.

(1) Ce maximum de fréquence est en rapport avec le fait que, en général, chez les limnées contaminées par les miracidia issus des œufs de douve, au printemps, la formation des cercaires demande quatre à six mois, c'est-à-dire que celles-ci ne donnent des métacercaires enkystées infectieuses, qu'en août et septembre.

Le pronostic de la distomatose hépatique n'est pas mauvais, en ce sens que la mortalité est faible, mais c'est une helminthiase pénible et tenace, pouvant aboutir, si le traitement spécifique par le chlorhydrate d'émétine n'est pas appliqué précocement, à des

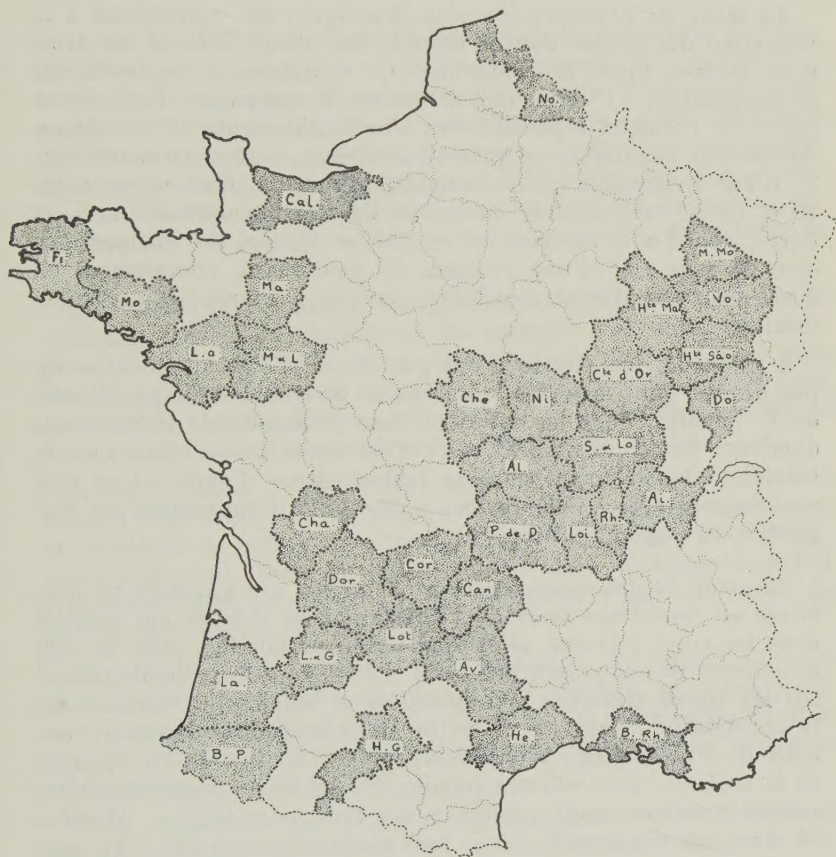


FIG. 1. — Répartition de la distomatose à *Fasciola hepatica*, en France, en 1960 (en grisé, les départements contaminés).

angiocholécystites aiguës ou chroniques ou à des occlusions des voies biliaires mettant en danger la vie des malades si l'on n'intervient pas chirurgicalement.

Cette infestation pose un problème sanitaire sérieux qui requiert

toute l'attention du corps médical et des services administratifs chargés de la protection de la santé publique.

Sur le plan diagnostique, la distomatose hépatique à *F. hepatica* doit être considérée — et ceci a une très grande importance thérapeutique — par rapport à deux stades de la maladie.

Au stade de première invasion hépatique, qui correspond à la migration des jeunes douves dans le foie et qui s'étend sur trois mois environ après la contamination, le diagnostic se fonde sur la constatation : 1° d'un état infectieux accompagné d'une fièvre (38° à 40°) tendant à prendre des allures d'hecticité ; 2° de signes douloureux hépatiques ou gastro-intestinaux, parfois pulmonaires ; 3° d'une hyperéosinophilie sanguine située habituellement entre 20 et 80 p. 100, insolite en raison de sa concomitance avec la fièvre, dont l'effet habituel est de réduire le taux des éosinophiles dans le sang ; 4° d'une réaction de fixation du complément ou d'une réaction d'hypersensibilité cutanée à l'antigène distomien positive.

A ce stade, les douves n'ont pas atteint l'état adulte et n'ont pas pénétré dans les voies biliaires ; on ne trouve donc pas d'œufs de *F. hepatica* dans les selles ni dans le liquide de prélèvement duodénal (sonde d'Eihorn). Or, c'est aussi à ce stade que la maladie est facilement curable (chlorhydrate d'émétine) et doit être diagnostiquée. Cela revient à dire toute l'importance du diagnostic sérologique précoce.

Au stade de deuxième invasion hépatique, qui apparaît du troisième au quatrième mois de l'infestation les douves ont pénétré dans les voies biliaires, elles sont devenues adultes, elles se sont accouplées et ont pondu des œufs. Le diagnostic se fonde, alors, sur les signes cliniques toxi-infectieux et biliaires et, surtout, sur la constatation, dans les selles ou dans le liquide duodénal, des œufs de *F. hepatica* ; l'hyperéosinophilie, du fait de l'ancienneté de la maladie, s'est souvent réduite, les réactions immunologiques restent positives, mais parfois à des taux plus faibles. Attendre ce stade est dangereux, car il faut alors avoir recours à un traitement itératif par le chlorhydrate d'émétine en injections ou par une quinone, l'Entobex, en ingestion, traitement dont le résultat favorable ne peut toujours être assuré. Ceci souligne, encore, toute l'importance du diagnostic sérologique de la maladie au stade de première invasion, essentiellement curable.

Ces considérations générales étant rappelées, nous étudierons dans ce travail les conditions étiologiques du développement d'un foyer hautement infectieux de distomatose à *F. hepatica* dans la vallée du Lot et les mesures propres à enrayer son évolution.

CONDITIONS DU DÉPISTAGE DE L'ENDÉMO-ÉPIDÉMIE ACTUELLE DU LOT ET DU LOT-ET-GARONNE

La Section d'Immunologie du Service de Parasitologie de l'Institut Pasteur a, parmi ses attributions, l'examen sérologique, par la réaction de fixation du complément, à partir d'antigènes parasitaires stabilisés et lyophilisés préparés par ses soins (antigènes distomien, bilharzien, filarien, trichinien, ascaridien, hydatique), du sang de malades se présentant au laboratoire, ou des sérums de malades qui lui sont adressés par les services sanitaires, les laboratoires de biologie clinique ou les médecins, dans toute la France.

Le nombre des examens séro-parasitologiques pratiqués par le laboratoire dans des conditions de contrôle rigoureux des antigènes et du complément est de 3 000 environ par an ; pour tous les échantillons de sérum examinés, le taux des éosinophiles dans le sang de chaque malade est, d'autre part, établi soit par le laboratoire demandeur, soit par la section du service.

Notre attention a été attirée, entre le mois d'août 1959 et le mois d'avril 1960, sur le nombre insolite des épreuves positives en réaction de fixation du complément, pratiquées avec l'antigène distomien, dans la région située entre Villeneuve-sur-Lot (Lot-et-Garonne) et Fumel (Lot-et-Garonne) dans une zone de 20 km de diamètre environ (2).

Sur 24 sérums prospectés par l'antigène distomien, 17, soit 70,8 p. 100, se montraient positifs en réaction de fixation du complément. Tous les malades présentant une réaction de fixation du complément positive offraient une hyperéosinophilie sanguine située entre 10 et 54 p. 100.

Nous rappelons que, par surcroît de rigueur, nous contrôlons nos réactions sur des témoins au sérum humain normal qui doivent répondre négativement et sur des témoins au sérum de lapin préparé par l'antigène distomien qui doivent répondre positivement. Une cause d'erreur dans l'interprétation de la réaction de fixation du complément à l'antigène distomien doit cependant être signalée : c'est la positivité possible de celle-ci dans les cas de syphilis évolutive et dans certaines dermatoses.

(2) La même constatation a été faite à la fin de l'année 1960, dans le département de Maine-et-Loire.

M. Roger Marcon, pharmacien-biologiste à Villeneuve-sur-Lot (Lot-et-Garonne), qui nous avait envoyé la plupart des échantillons de sérum provenant de Villeneuve-sur-Lot et de la région, nous fit connaître que plusieurs diagnostics cliniques de distomatose avaient été établis par le D^r René Mourgues, chirurgien à Fumel, et par le D^r Barbès, résidant à Sainte-Livrade.

Deux d'entre nous, R. Sigalas et R. Mourgues, ont, d'ailleurs, relaté, en 1958, une épidémie de distomatose à *Fasciola hepatica* qui atteignit 250 personnes dans la partie de la vallée du Lot s'étendant sur les communes de Puy-l'Evêque, Duravel, Soturac, Condat (Lot) et Fumel (Lot-et-Garonne), épidémie que nous commenterons plus loin.

En ce qui concerne les faits épidémiologiques actuels, les réactions positives que nous avons constatées, jointes aux signes hématologiques (taux de l'éosinophilie sanguine situé entre 10 et 54 p. 100) et cliniques (manifestations fébriles à allure toxoinfectieuse, avec signes abdominaux et hépatiques habituels) signalés par nos confrères du Lot et du Lot-et-Garonne, on pouvait conclure péremptoirement au développement d'une épidémie de distomatose à *Fasciola hepatica* dans la région située entre Puy-l'Evêque et Villeneuve-sur-Lot.

Sans doute la preuve parasitologique classique de l'infestation, c'est-à-dire la constatation des œufs de *F. hepatica* dans les selles ou dans le liquide duodénal, n'a-t-elle été apportée que dans un pourcentage restreint des cas (5 p. 100), soulignant d'ailleurs ainsi le fait épidémique ; mais nous ajouterons qu'il est bon qu'il en ait été ainsi, et ceci pour les raisons exposées plus haut, c'est-à-dire : grande vulnérabilité de la maladie jeune avant l'apparition des œufs (avant trois mois) par le chlorhydrate d'émétine, curabilité difficile après l'apparition des œufs (plus de trois mois).

En pratique médicale et épidémiologique pertinente, le diagnostic de quasi-certitude de la distomatose hépatique peut se fonder sur la réaction de fixation du complément positive, fidèle dans 80 à 90 p. 100 des cas environ, associée à l'hyperéosinophilie, autant que sur la constatation des œufs.

Afin de préciser les conditions déterminantes et favorisantes de l'endémo-épidémie constatée dans la vallée du Lot, nous nous sommes mis en rapport avec le Directeur Général de la Santé Publique, puis avec le Directeur Régional de la Santé du Lot-et-Garonne, pour prospecter les foyers présumés de contamination.

A partir de cette initiative, nous avons procédé, conjointement avec le D^r Darmé, Directeur sanitaire départemental du Lot-et-Garonne, à une première enquête dont nous donnons ci-après le compte rendu.

ENQUÊTE SUR LA DISTOMATOSE DANS LA VALLÉE DU LOT (année 1960)

L'enquête, conduite entre le 12 avril et le 17 septembre 1960, a d'abord porté sur l'examen de la liste des sujets distomiens

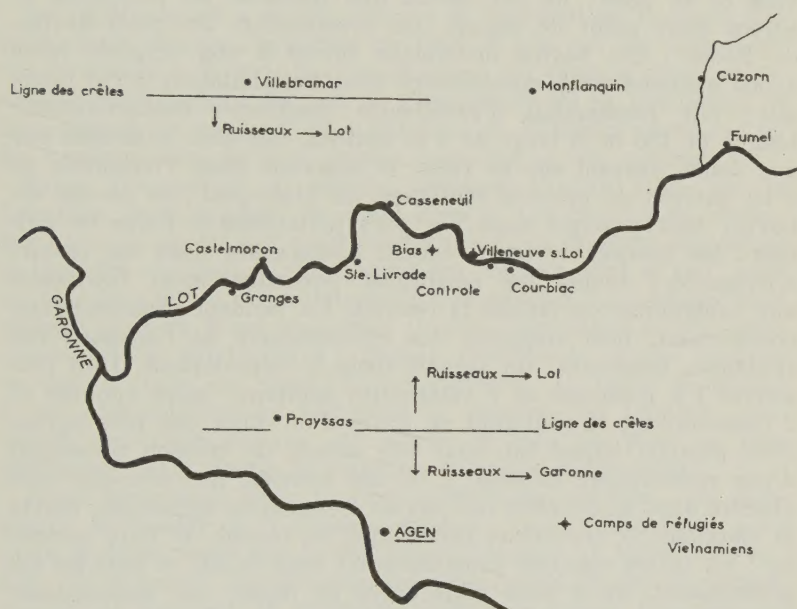


FIG. 2. — Carton de la vallée du Lot, entre Fumel et la Garonne (1 cm pour 2 km).

identifiés conjointement par le Laboratoire de Biologie clinique (R. Marcon) de Villeneuve-sur-Lot et par l'Institut Pasteur.

Le simple examen de la dispersion des localités où des cas de distomatose ont été diagnostiqués, cliniquement et biologiquement, montre que l'affection intéresse la vallée du Lot, depuis Puy-l'Evêque dans le département du Lot, jusqu'à la Garonne, en passant par Fumel et Villeneuve (fig. 2). La plupart des localités intéressées sont en bordure même du Lot, certaines autres sur les côteaux nord et sud, mais en liaison avec cette rivière, du fait de l'existence de nombreux cours d'eaux ou ruisseaux s'y jetant.

PROSPECTION DE LA VALLÉE DU LOT.

Le foyer de distomatose situé le plus en amont de la partie de la vallée du Lot que nous avons prospectée, est celui de Puy-l'Evêque, bourg de 1 690 habitants à activité surtout agricole, placé au confluent de la Thèse et du Lot.

Des épisodes épidémiques ont été signalés dans le canton en 1958 et en 1959 ; ils ont atteint une trentaine de personnes et eurent pour point de départ une cressonnière de Saint-Martin-de Redon ; des bovins distomiens furent à son origine. Nous avons examiné cette cressonnière dont l'exploitation a été interdite ; elle rassemblait d'excellentes conditions contaminantes ; longue de 150 m et large de 4 m environ, elle était alimentée par une vanne ouvrant sur la Thèse et assurant aussi l'irrigation de 3 ha environ de prairies contiguës, de plain-pied ; le pacage de bovins était pratiqué dans ces prés juxtaposés à l'aire de culture ; les limnées vectrices étaient nombreuses dans les canaux d'irrigation ; toutes les conditions particulièrement favorables aux contaminations étaient là réunies. Un incident gastronomique contaminant, bien suggestif des circonstances de l'éclosion des épidémies familiales, fut signalé dans le département. Huit personnes : 2 médecins et 1 vétérinaire sanitaire, leurs épouses et 2 domestiques, se réunirent au cours d'un dîner des plus agréables, pendant lequel fut servi une salade de cresson provenant d'une cressonnière infestée. L'un des conviés, médecin qui avait observé dans sa clientèle des cas de distomatose hépatique, écarta la tentation du cresson et convainquit sa femme de faire comme lui ; les autres convives consommèrent cette salade et tous les six présentèrent, un à trois mois après ce repas, une distomatose, heureusement identifiée, traitée et guérie.

Le vétérinaire sanitaire de Puy-l'Evêque, le Dr Boris Chvidchenko, signale que, chez les ovins du territoire, la distomatose à *F. hepatica* et les strongyloses broncho-pulmonaires sont très communes.

Notre enquête a porté ensuite sur la région de Fumel, siège d'une épidémie sévère étudiée en 1958 par Mandoul, Sigalas et Mourgues [7]. La maladie a été remarquablement localisée, elle atteignit toutes les personnes ayant acheté du cresson à un marchand ambulant dont la cressonnière se trouvait sur la Thèse, petit affluent du Lot, au lieu dit Moulin de Guiral, dont Fumel n'est qu'à 4 km. La cressonnière responsable fut fermée ; les producteurs figurèrent eux-mêmes parmi les malades.

Le Dr René Mourgues, chirurgien à Fumel, nous confirma les faits relatés en précisant que cette épidémie avait atteint 250

personnes environ, et que le vétérinaire sanitaire, inspecteur des abattoirs de Fumel, avait noté qu'une proportion considérable des moutons, au moins 70 p. 100, livrés à l'abattoir contrôlé par lui, étaient distomiens et polyparasités par des strongylidés au point que « les viscères se déplaçaient tout seuls après l'étrépage ! »

Le vétérinaire sanitaire de Prayssas, localité voisine de Fumel, a noté que presque tous les moutons dépecés aux abattoirs étaient distomiens.

Le Dr Mourgues a décelé des cas de distomatose humaine dès 1956, mais, depuis l'épidémie de 1958, il n'a pas été signalé de cas nouveaux à Fumel, la consommation du cresson ayant considérablement diminué du fait de l'inquiétude de la population et les épiciers se ravitaillant maintenant à Villeneuve-sur-Lot, où les cressonnières seraient saines bien que « non agréées ».

Notre prospection a ensuite intéressé Cuzorn situé sur la Lemance, petit ruisseau se jetant dans le Lot en aval de Fumel. Bien que la région soit actuellement saine, ce ruisseau représente le type des rivières qui descendent des coteaux nord et sud, pour se jeter dans le Lot et qui doivent être surveillées. La Lémance était réputée pour sa faune abondante (truites, écrevisses) et ses belles cressonnières particulières ; depuis l'installation d'une tannerie en amont (zone de Saint-Front-Sauveterre), la faune aquatique a été considérablement remaniée (y compris les limnées, sans doute), les cressonnières ont déperé et sont de plus en plus délaissées, étant donné la pollution chimique de la rivière.

Nous atteignons alors la zone épidémique actuelle, qui commence en amont de Villeneuve-sur-Lot. Avant Villeneuve, nous nous arrêtons dans une ferme, entre Courbiac et Villeneuve-sur-Lot, où se trouve une cressonnière, non agréée du fait de l'insuffisance de mesures de protection contre le bétail. Les mesures n'ont pas été prises, mais la cressonnière est exploitée et le cresson vendu.

Nous traversons Villeneuve pour nous rendre à Sainte-Livrade où nous voyons le Dr Barbès qui a diagnostiqué une dizaine de cas de distomatose depuis le début de l'année, tous dans la commune de Sainte-Livrade.

Au camp de réfugiés viet-namiens de la localité où deux enfants distomiens ont été dépistés, le directeur de l'établissement nous fait connaître qu'une grande consommation de cresson se fait dans le camp, ce cresson venant de Villeneuve-sur-Lot. Par ailleurs, les Viet-namiens cultivent une foule d'herbes exotiques, mais ne fument pas leurs plantations qu'ils arrosent avec l'eau de la ville.

Nous avons inspecté une cressonnière contaminée — là encore, l'exploitant lui-même a contracté une distomatose — située dans

le domaine de la Breil (Ferme P.) dans les coteaux au nord de Sainte-Livrade. La disposition des lieux rend compte très clairement des circonstances de la contamination, qui résulte de l'écoulement de purins et d'issues d'une étable à bovins installée en

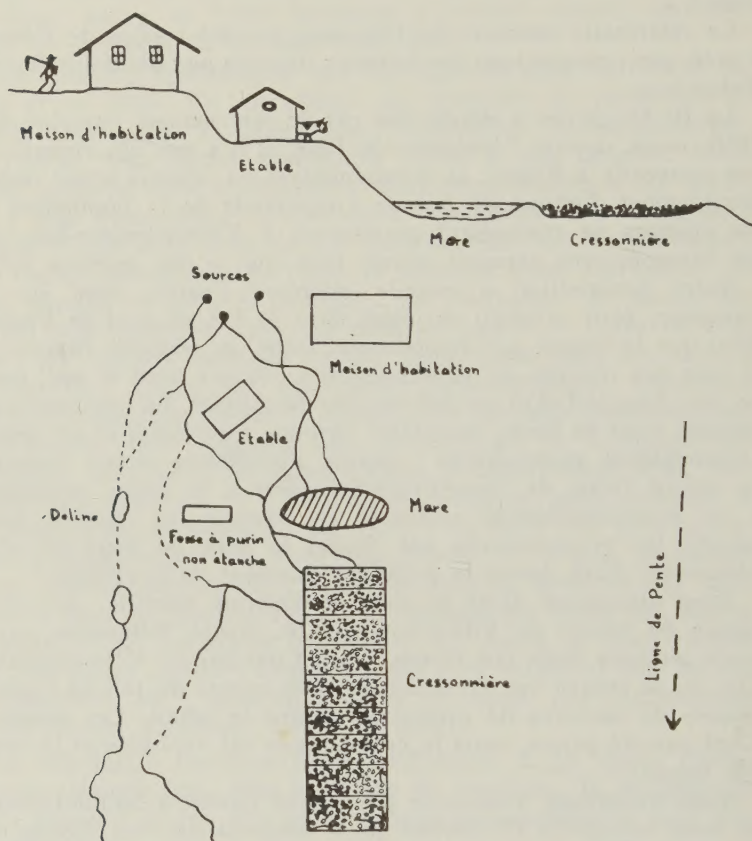


FIG. 3. — Dispositions topographiques (ferme P.) favorables à la contamination d'une cressonnière par les œufs et les cercaires de *Fasciola hepatica*.

forte pente au-dessus d'une cressonnière située en contre-bas et alimentée par d'excellentes sources qui, fâcheusement, croisent leurs voies avec celles d'écoulements de purins, toutes ces affluences aboutissant, en amont de la cressonnière, à une mare à bestiaux qui participe à l'irrigation du terrain de culture (fig. 3).

Nous insistons volontairement sur de tels et multiples aspects,

bien révélateurs des conditions de contamination, car ils commandent les mesures prophylactiques à proposer.

On trouve à Sainte-Livrade de belles et vastes exploitations maraîchères irriguées par des eaux de source et des cressonnières ne présentant aucune promiscuité dangereuse avec des pacages à bestiaux. Cependant, certaines de ces cultures se trouvent dans des parties encaissées contiguës à de petits prés et peuvent recevoir les eaux de ruissellement de ceux-ci, où des animaux viennent occasionnellement pâturer ; bien que certaines de ces cressonnières soient très bien clôturées et entretenues, on doit interdire à leurs propriétaires un tel voisinage, source éventuelle de contamination.

La visite des cressonnières de Villeneuve, qui ravitaillent actuellement, et presque exclusivement, toute la région de Sainte-Livrade à Fumel, donne des résultats contingents. Certaines de ces cressonnières, de source, sont d'aspect très sain, bien organisées, mais partiellement seulement à l'abri du bétail ; de ce fait, elles ne sont pas agréées. D'autres, irriguées par des sources, sont loin de tous pacages ; elles répondent, sous la réserve de contrôle par les agents sanitaires, à un aménagement favorable.

PROSPECTION DES COTEAUX ET LIGNES DE PARTAGE DES EAUX DE LA VALLÉE DU LOT.

Nous avons enquêté à Prayssas, une des localités situées sur les coteaux, où des cas de distomatose avaient été signalés (Prayssas au sud, Monclar, Villebramar et Montflanquin au nord). Sur ces coteaux, l'élevage du mouton, sans être très développé, est beaucoup plus important que dans la vallée du Lot proprement dite, où l'élevage des bovins prédomine ; le fils du vétérinaire-sanitaire a été atteint récemment de distomatose ; nous avons vu le boucher de Prayssas qui possède sa propre tuerie ; signalons que dans le Villeneuvois, il y a une quinzaine de tueries particulières pour cinq abattoirs municipaux. Les bovins et les moutons abattus sont achetés dans un périmètre de 10 km autour de Prayssas et, notamment, à Laugeac, Montpezat, Lafitte ; 70 p. 100 des bêtes abattues sont douvées, les foies étant évidemment saisis par le vétérinaire. Ce chiffre d'animaux distomiens est voisin de celui fourni par le vétérinaire sanitaire de Fumel. Il convient de remarquer qu'un certain nombre des localités d'où proviennent les moutons ramassés par les bouchers du pays vivent dans les pâtures situées à proximité de ruisseaux se jetant dans le Lot (Montpezat et Lafitte, notamment) et utilisés par les maraîchers de la basse vallée pour l'irrigation de leurs cultures (salade, radis et éventuellement cresson). Les cressonnières ainsi irriguées doivent être formellement interdites, mais on ne peut empêcher les

fermiers de cultiver du cresson dans ces conditions pour leur consommation personnelle ; l'exemple relatif à la cressonnière de Saint-Martin de Redon, que nous avons relaté, montre bien le danger de tels aménagements ; les cressonnières de sources en coteau sont aussi vulnérables.

Le cresson, s'il apparaît comme un facteur majeur des contaminations distomiennes, ne semble pas les assurer seul. Certaines crudités, les cultures de salades et de radis, peuvent être suspectées ; il n'est pas rare de trouver des limnées dans ces cultures irriguées et parfois inondées par des ruisseaux contenant des mollusques. Il convient d'ajouter que l'engrais fertilisant, souvent employé par les maraîchers de la vallée et de ses coteaux pour la culture intensive des primeurs, des salades et, même, du cresson, est le fumier de mouton brut qui, naturellement, contient fréquemment des œufs de *Fasciola hepatica* ; ceux-ci atteignant l'eau contamineront les limnées qui, à leur tour, libéreront des cercaires aboutissant aux métacercaires infectieuses enkystées et fixées sur les végétaux alimentaires.

RAPPEL DES ÉPISODES ÉPIDÉMIQUES DE DISTOMATOSE OBSERVÉS DANS LA VALLÉE DU LOT AVANT LA PRÉSENTE ENQUÊTE.

On savait, depuis fort longtemps, que certains élevages de moutons localisés dans les bas-fonds humide et les vallées des rivières affluentes du Lot, sont contaminés fortement par la grande douve (*Fasciola hepatica*) et par la petite douve (*Dicrocoelium dendriticum*) et que des bouffées sporadiques de distomatose hépatique humaine étaient constatées de façon non rare dans la région sous revue.

En 1956, R. Mourgues, à Fumel, identifia cliniquement et sérologiquement deux cas de distomatose hépatique humaine.

Cependant, le contrôle sanitaire précis de la distomatose dans la vallée du Lot prend pour départ l'importante épidémie qui fut observée en 1957-1958 par l'un de nous avec R. Sigalas et R. Mourgues et qui atteignit, comme nous l'avons déjà relaté, 250 personnes, environ.

Nous donnons ici l'essentiel de ces informations et une carte représentative (fig. 4) de la région dans laquelle l'épidémie s'est développée.

L'un des foyers actifs de l'épidémie était la cressonnière du Moulin de Guiral dont nous avons déjà parlé (p. 704) ; une vente active et régulière de la récolte de cresson s'effectuait de porte en porte, le long de la route nationale reliant Puy-l'Evêque à Fumel ; les commerçants et les restaurateurs étaient largement approvisionnés. Sur le trajet de la tournée du vendeur était étroitement

appliquée la trainée d'infestation ; cette dernière s'arrêtait à la périphérie de Libos, là où l'épuisement du stock imposait la fin de la vente. Des familles entières ont été contaminées. Certains estivants, venus du Congo, ont présenté, après leur retour en Afrique, des troubles dont la nature leur a été révélée par l'enquête. Des explications embarrassées de l'exploitant de la cressonnière, il résulte que cette dernière a reçu, à titre d'engrais, dans le courant de l'été, du fumier de mouton frais et probablement contaminé.

Au cours des épidémies de Puy-l'Evêque et de Fumel, en 1958, il a été observé deux décès chez les malades atteints de distoma-

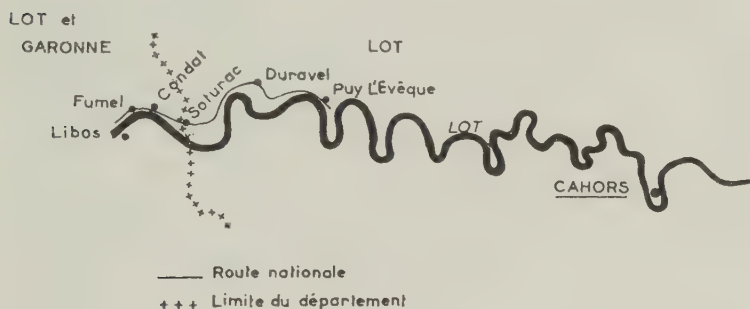


FIG. 4. — Carton de la vallée du Lot, entre Cahors et Fumel (1 cm pour 2 km).

tose ; ces décès sont probablement en rapport avec une intolérance au traitement par le chlorhydrate d'émétine qui fut appliqué ; l'un concernait une femme de 74 ans hyposystolique, l'autre un homme de 50 ans alcoolique et pléthorique.

DISCUSSION.

La première notion qui se dégage de l'ensemble des faits épidémiologiques relatifs à la distomatose hépatique en France depuis 1950, est l'extension, au moins apparente, de cette infestation contractée dans les régions rurales, et particulièrement celles productrices de primeurs et de cresson.

Il est possible que cet accroissement soit en rapport avec le perfectionnement des moyens d'investigation et de diagnostic (réaction de fixation du complément, meilleure connaissance du syndrome hyperéosinophilique fébrile) propres à déceler la maladie et à donner une bonne connaissance de ses dimensions exactes, révélant ainsi des cas qui ne l'auraient pas été il y a plus de

dix ans. Il est cependant logique d'admettre que cette extension est réelle, en raison de la fréquentation de plus en plus grande des campagnes, en été et en automne, par les estivants des villes, amateurs de grand air, de fraîcheur et de crudités. Il se trouve que, justement, de nombreux malades s'observent dans cette catégorie de la population. Le Lot et le Lot-et-Garonne sont en tout cas à ajouter à la carte des départements français où sévit activement la distomatose hépatique humaine.

L'aspect épidémiologique de la distomatose hépatique humaine, dans la région de Villeneuve et de Fumel, offre les particularités suivantes :

1° Les réservoirs de virus habituels sont le bœuf et le mouton. Cependant, les bovins semblent être le plus souvent à l'origine de la contamination des végétaux consommés crus et, en particulier, du cresson. En effet, les cressonnières et les cultures maraîchères ainsi que les prairies sont surtout établies dans les vallées, à proximité des rivières, des ruisseaux, des sources naturelles ou des stations de pompage ; sur ces sols riches, généreusement irrigués et propres aux pâturages, ce sont naturellement des bovins qui sont mis au pacage ; si ces animaux sont infestés, ce sont leurs déjections qui, par l'intermédiaire des eaux de ruissellement ou directement, contamineront les cressonnières ou les cultures maraîchères.

En coteau, lorsque les sources où les ruisseaux abondent et que des prairies ou des aires maraîchères en terrasses ou en cuvettes peuvent être constituées, ce sont encore les bovins que l'on rencontre surtout et ce sont encore eux les principaux contamineurs.

Dans les collines peu irriguées, à relief irrégulier et accentué et où les cultures de céréales ou alternantes sont pratiquées, le cheptel usuel est le mouton et la chèvre et s'il existe, dans ces territoires, des aménagements d'ailleurs restreints de cressonnières et de terrains maraîchers, c'est par les ovins et les caprins que ces cultures sont dans la règle polluées.

On doit d'ailleurs remarquer que les petites cressonnières, exploitées ou sauvages, des coteaux paraissent bénignes en raison de leur éloignement rustique, de l'absence apparente d'animaux contamineurs, les troupeaux ne faisant que passer, et de l'aspect séduisant et bucolique du site ; elles sont en réalité fort dangereuses, les cressonnières du Moulin de Guiral, près de Puy-l'Evêque et de la ferme P., à Sainte-Livrade, étaient dans ce cas.

2° La contamination des moutons et des bovins, dans la vallée du Lot, peut atteindre 70 p. 100, ce qui est considérable, mais la tolérance des ovins à la distomatose paraît relativement bonne,

les troupeaux, étant dans l'ensemble prospères et donnant des viandes de bonne qualité.

3° Les troupeaux vivant, habituellement, sur les coteaux et sur la ligne des crêtes, sont moins contaminés que ceux hébergés dans la vallée, ce qui est, d'ailleurs, généralement noté. Les pollutions des cultures ont surtout pour origine la souillure directe (défécation) ou indirecte (entraînement des déjections par les eaux de ruissellement, écoulement des purins ou des issues d'étables). Un bon exemple de ce type de contamination est fourni par les constatations que nous avons relatées au sujet de l'enquête à la ferme P., à Sainte-Livrade.

4° Vient ensuite, comme cause importante de la dispersion du contagé, l'utilisation du fumier frais de bœuf et de mouton comme engrais. Il est incontestable que, sur le plan de l'économie rurale, la valeur fertilisante de ces engrais est de premier ordre (3), cependant, comme nous le montrerons, les conditions d'application de ces fumiers doivent suivre des règles précises, pour éviter les contaminations distomiennes.

5° Un grand nombre de cultures maraîchères, celles des salades et des radis particulièrement, sont pratiquées en terrain inondable et nous avons pu observer des limnées vectrices sur des plants de salades et de radis de certaines parcelles. La présence de ces limnées sur des crudités dans les terrains fumés au crottin de mouton a pour conséquence probable la fixation ultérieure, sur les plantes, de métacercaires contaminantes pour l'homme par l'ingestion de végétaux crus. Une surveillance sanitaire éventuelle devrait donc non seulement intéresser le cresson (culture submergée), mais aussi la culture des primeurs partiellement ou périodiquement inondés.

6° Sur un fond endémique de distomatose peuvent se développer occasionnellement (vente « de porte en porte » par un maraîcher de toute une récolte de cresson contaminé, repas comportant du cresson sauvage cueilli sans discernement par des estivants) des épisodes épidémiques frappant des familles ou de petites collectivités. Ces épisodes locaux sont sérieux puisque, en se multipliant, ils peuvent atteindre plusieurs centaines d'individus. Ils méritent une attention particulière, car si le pronostic de la distomatose n'est généralement pas mauvais, il est loin d'être bon et il y a toujours à craindre la possibilité d'incidents aigus (angiocholécystite purulente, occlusion des voies biliaires) mettant la vie en danger.

(3) Le fumier de mouton fermenté est désigné, dans les milieux ruraux du centre et du sud-ouest, sous le nom suggestif de « beurre noir ».

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ALLAINES (F. d'), LAVIER (G.) et GANDRILLE (F.). *Presse méd.*, 1942, **50**, 738.
- [2] ARIS, DESCHIENS (R.), DUIZABO, FLYE SAINTE-MARIE (E.), LAPEYRE et SAUCHET. *Presse méd.*, 1956, **64**, 265.
- [3] COUDERT (J.) et TRIOZON (F.). *Presse méd.*, 1957, **65**, 1586.
- [4] DESCHIENS (R.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, **94**, 256.
- [5] KISSEL (P.). *Bull. Acad. nat. Méd.*, 1957, **141**, 231.
- [6] LAVIER (G.). *Encyclopédie médico-chirurgicale*, 1950, art. n° 7029.
- [7] MANDOUL (R.), SIGALAS (R.) et MOURGUES (R.). *J. méd. Bordeaux*, 1958, **135**, 665.
- [8] SÉDALLIAN (P.), MARAL (R.) et PERRIN (A.). *Bull. Mém. Soc. méd. Hôp.*, 1949, **65**, 327.

(à suivre).

ÉTUDE SÉROLOGIQUE DE 559 SOUCHES DE STAPHYLOCOQUES PATHOGÈNES ISOLÉES EN FRANCE

RÉPARTITION ET FRÉQUENCE RELATIVE DES DIFFÉRENTS TYPES

par J. PILLET, B. ORTA, M. FOUCAUD et M. PERRIER (*).

(Institut Pasteur, Annexe de Garches)

Nous avons confirmé au cours de recherches antérieures [5, 6, 7] que chacune des souches types décrites par Cowan [3] (souches I, II, III), Christie et Keogh [2] (souches 4, 5, 6, 7, 8, 9) et Hobbs [4] (souches 10, 11, 12, 13) présentaient à leur surface au moins un agglutinogène spécifique. Il convenait dès lors de rechercher dans quelle mesure l'utilisation des treize sérums absorbés correspondant aux souches types permettait d'individualiser les staphylocoques et éventuellement de les classer. Nous avons, dans ce but, étudié un nombre important de staphylocoques isolés en France et présentant une origine géographique variée, ceci afin de compléter notre expérimentation concernant la validité de la méthode d'individualisation sérologique par un premier travail ayant pour objet l'étude de la répartition et de la fréquence des différents types de staphylocoques pathogènes rencontrés dans ce pays.

559 souches de staphylocoques coagulase-positifs provenant de la région parisienne et des régions nord, centre et sud de la France ont été étudiées au cours de ce travail. Les principaux caractères biologiques de ces souches ont été précisés (pigmentation, fermentation du mannitol, production d'hémolysines α et β), mais c'est la détermination qualitative des agglutinogènes présents à la surface de ces souches et la classification des staphylocoques en fonction des types mis en évidence qui ont constitué la partie essentielle de cette étude.

(*) *Société Française de Microbiologie*, séance du 2 mars 1961.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES.

MATÉRIEL.

Souches. — Toutes les souches étudiées au cours de ce travail sont des souches de staphylocoques coagulase-positifs qui, à l'exception de 16 d'entre elles prélevées au niveau des fosses nasales de porteurs sains, ont été isolées de lésions au cours de l'année 1960.

Grâce à la collaboration de différents bactériologistes de province et de la région parisienne, nous avons pu réunir des souches d'origine géographique très variée (1). Dans la mesure du possible, les souches isolées l'ont été sur des malades dits « de ville », consultants ou récemment hospitalisés, afin d'éviter d'étudier à plusieurs reprises une même souche contaminant une salle ou un service hospitalier. Une telle éventualité a pu néanmoins se produire dans certains cas, mais le nombre élevé de souches étudiées et l'éloignement des lieux d'origine des souches permettent de considérer que les résultats obtenus donnent une image assez exacte de la contamination staphylococcique en France.

Nous avons étudié au total 559 souches dont l'origine géographique peut être résumée de la façon suivante :

Région du Nord, centrée par Lille (D^r Beerens) : 146 souches.

Région parisienne (D^{rs} Badillet, Bonnefoi, Browaey, Chabbert, Wahl et Fouace) : 179 souches.

Région du Centre, centrée par Lyon (D^r Courtieu) : 120 souches.

Région du Sud : Bordeaux (D^{rs} Bentegeat, Lapeyre), Toulouse (D^r Enjalbert), Montpellier (Professeur Roux) : 100 souches.

Autres régions : 14 souches isolées dans des régions différentes de celles énumérées ci-dessus (Ouest : 11 souches ; Est : 3 souches) et qui nous ont été adressées pour identification au cours de l'année 1960, ont été incluses dans ce travail.

Sérums. — Les sérums utilisés ont été obtenus par absorption convenable des sérums bruts préparés à l'aide des treize souches types. Nous avons montré précédemment [6, 7] qu'en raison de l'existence de plusieurs agglutinogènes spécifiques à la surface de certaines souches types, il était très difficile d'obtenir dans tous les cas des sérums encore très actifs et rigoureusement spécifiques. Nous nous sommes trouvés, en conséquence, dans certains cas, devant l'alternative suivante : utiliser des sérums peu actifs mais rigoureusement spécifiques, ou employer des sérums plus puissants mais agglutinant encore plusieurs souches types. Nous avons opté pour la seconde solution car il importait plus dans ce travail de mettre en évidence les antigènes dominants de chacune des souches étudiées que de faire de celles-ci une analyse sérologique très fine.

(1) Nous remercions très sincèrement Messieurs les bactériologistes qui ont bien voulu collaborer à ce travail en nous envoyant les souches dont ils pouvaient disposer.

Les sérums utilisés avaient les propriétés suivantes :

Les sérums I, 4, 6, 7, 9, 10, 11 pouvaient être considérés comme spécifiques.

Les sérums II et 5 agglutinaient tous deux les souches types II et 5, les sérums III et 13 agglutinaient tous deux les souches types III et 13, les sérums 8 et 12 agglutinaient tous deux les souches types 8, 11 et 12.

TECHNIQUES.

Détermination des caractères des souches étudiées. — Sauf dans quelques cas exceptionnels, un isolement a été pratiqué sur chacune des souches et l'on est reparti, en règle générale, d'une colonie isolée. La pigmentation des souches a été notée et pour chacune d'elles les épreuves suivantes ont été effectuées :

a) Fermentation du mannitol, éprouvée par le virage du milieu de Chapman.

b) Production de coagulase, mise en évidence par la coagulation du plasma de lapin (méthode en tube).

c) Elaboration des hémolysines α et β étudiée sur gélose au sang de mouton.

Détermination du type sérologique. — Cette détermination a été effectuée au moins trois fois pour chacune des souches à des intervalles égaux ou supérieurs à un mois. Les souches ont été repiquées sur gélose nutritive dans la semaine précédant chacun des typages. Le typage a été effectué selon les modalités décrites antérieurement [7] et que l'on peut résumer de la façon suivante : culture de 18 heures à 37° en milieu liquide (10 ml de milieu par tube), centrifugation, reprise du culot par 1 ml du milieu de culture formolé à 1 p. 100, agglutination sur lame avec lecture au bout de quinze et trente minutes.

RÉSULTATS.

Nous séparerons dans l'énoncé des résultats obtenus, d'une part ceux concernant les différents tests classiques auxquels ont été soumises les souches, et d'autre part ceux relatifs à l'examen sérologique de ces souches.

CARACTÈRES BIOLOGIQUES DES SOUCHES ÉTUDIÉES.

Toutes les souches retenues au cours de cette étude étaient productrices de coagulase et toutes, sauf 4, attaquaient le mannitol.

Du point de vue du pigment, 484 souches étaient dorées, 25 blanches, 36 élaboraient un pigment noté « crème », intermédiaire entre les pigments doré et blanc, et 14 produisaient un pigment citrin.

En ce qui concerne la production des hémolysines, 505 souches étaient α -toxigènes dont 48 très faiblement, 29 élaboraient les deux toxines α et β , 4 produisaient seulement la toxine β et 21 enfin étaient non hémolytiques. On notera le nombre important de souches produisant de la toxine β associée ou non à la toxine α , ces résultats confirmant ceux publiés récemment par Brown [4].

Nous signalerons dès maintenant qu'aucune relation n'a pu être mise en évidence entre la pigmentation des souches ou leurs propriétés hémolytiques et leur origine géographique.

INDIVIDUALISATION SÉROLOGIQUE DES SOUCHES ÉTUDIÉES.

L'étude des 559 souches isolées nous a permis de mettre en évidence l'existence de différents types prédominants, les souches appartenant à chacun de ces types agglutinant, selon les cas, avec un ou plusieurs des sérums spécifiques utilisés. Les souches

TABLEAU I.

| TYPES | ORIGINE GEOGRAPHIQUE | | | | | TOTAL |
|------------------------------|----------------------|------|--------|-----|----------------|-------|
| | Région de Paris | Nord | Centre | Sud | Autres régions | |
| I | 42 | 27 | 19 | 14 | 3 | 105 |
| Autres types simples | 12 | 12 | 4 | 4 | 2 | 34 |
| I-II-5 | 47 | 41 | 51 | 42 | 3 | 184 |
| 9-12 (III-5-6-8-10-11-13) | 26 | 34 | 24 | 21 | 1 | 108 |
| Autres types mixtes | 27 | 20 | 14 | 7 | 4 | 72 |
| Non typables | 21 | 12 | 7 | 11 | 1 | 52 |
| Agglutination spontanée | 2 | | 1 | 1 | | 4 |
| TOTAL | 179 | 146 | 120 | 100 | 14 | 559 |

présentant une spécificité multiple étant les plus nombreuses, nous indiquerons dans une série de tableaux complémentaires le détail des réactions présentées par ces souches, mais il nous a paru utile de résumer tout d'abord dans un premier tableau l'ensemble de résultats obtenus au cours de cette étude (tableau I).

Nous discuterons plus loin ces résultats, mais il paraît indis-

pensable en premier lieu d'étudier en détail les réactions caractérisant les différents types prédominants notés dans le tableau.

Type I. — Les souches de ce type sont agglutinées exclusivement par le sérum I.

Autres types simples. — Un petit nombre de souches n'ont réagi qu'avec un seul des sérums spécifiques et peuvent donc être considérées comme appartenant au type correspondant. Elles peuvent être groupées comme il est indiqué dans le tableau II.

TABLEAU II.

| TYPES | REGIONS | | | | |
|--------|---------|------|--------|-----|--------|
| | Paris | Nord | Centre | Sud | Divers |
| II-5 | 3 | 1 | | 3 | 1 |
| III-13 | | 1 | | | |
| 6 | | 2 | | | |
| 7 | 2 | 5 | 1 | 1 | |
| 9 | 3 | | | | |
| 11 | 2 | 1 | 2 | | 1 |
| 12 | 2 | 2 | 1 | | |

Les sérums II et 5 d'une part, et III et 13 d'autre part, présentant comme il a été indiqué plus haut, une double spécificité, il ne nous a pas été possible pour l'instant d'analyser de façon

TABLEAU III.

| TYPES | REGIONS | | | | |
|---------------|---------|------|--------|-----|--------|
| | Paris | Nord | Centre | Sud | Divers |
| I-II-5 | 37 | 31 | 30 | 39 | 3 |
| I-II-5-9 | 3 | 5 | 1 | 1 | |
| I-II-5-12 | 3 | | 12 | | |
| I-II-5-III-6 | 2 | | 4 | 1 | |
| I-II-5-III-11 | 1 | | 3 | | |
| I-II-5-6-9 | | | | 1 | |
| I-II-5-9-12 | | 2 | | | |
| I-II | 1 | 3 | 1 | | |

plus détaillée les souches réagissant avec deux de ces sérums. Il n'est donc pas exclu que de telles souches présentent deux agglutinogènes spécifiques à leur surface, mais il nous a paru

justifié, étant donné le type très particulier de ces souches, de les classer au moins provisoirement parmi celles présentant un type sérologique simple.

Type I-II-5. — Les souches de ce type présentent une agglutination nette avec le sérum I, accompagnée d'agglutinations d'intensité variable avec les sérums II et 5. Dans le tableau I nous avons, pour simplifier, inclus dans ce groupe les souches présentant en outre des agglutinations secondaires avec un ou deux des sérums suivants : III, 6, 9, 11, 12, l'intensité des réactions observées avec ces sérums étant toujours nettement moindre que celle notée avec les sérums I, II et 5. Dans ce groupe ont été également comprises quelques souches agglutinant avec les sérums I et II mais ne réagissant pas avec le sérum 5 (cf. tableau III).

Type 9-12 (III, 5, 6, 8, 10, 11, 13). — Nous avons rencontré un nombre important de souches de ce type, lequel est caractérisé par une réaction marquée avec chacun des sérums 9 et 12 et des réactions plus faibles et dont l'intensité peut varier d'un typage à l'autre avec certains des sérums types indiqués entre parenthèses.

Autres types mixtes. — Nous avons groupé sous ce titre une série de souches présentant des réactions d'agglutination très

TABLEAU IV.

| TYPES | REGIONS | | | | |
|-----------------------------|---------|------|--------|-----|--------|
| | Paris | Nord | Centre | Sud | Divers |
| 7-9-12-5-13 (II) | 2 | 1 | 1 | | |
| 7-9-12-5-6 (III) (13) | 1 | | | | 1 |
| 7-9-12-6-8-11 (III) (13) | 1 | | | 1 | |
| 7-9-12-III-5-11-13 (6) | 1 | | 1 | | |
| 7-9-12-III-5-10-11 (II) (6) | | 2 | | | |
| 7-9-12-II-5-10 (6) (8) | | 1 | | | 1 |

N. B. Dans ce tableau et les suivants nous avons indiqué entre parenthèses les réactions d'agglutination présentées seulement par certaines des souches du groupe considéré.

variées, chacun des types observés n'ayant été rencontré qu'un petit nombre de fois au cours de cette étude. Ces souches ont pu être divisées en cinq sous-groupes en fonction de l'existence à leur surface d'un agglutinogène particulier ou d'association

caractéristiques d'antigènes ce qui nous a amenés à adopter la classification suivante :

a) Souches présentant des réactions voisines de celles du type 9-12 (III, 5, 6, 8, 10, 11, 13), mais présentant en outre toujours une agglutination avec le sérum 7 et quelquefois une faible réaction avec le sérum I (cf. tableau IV).

b) Souches agglutinant toujours avec les sérums I et 4 et présentant de plus quelques-unes des réactions du type 9-12 (III, 5, 6, 8, 10, 11, 13) et dans un cas une faible réaction avec le sérum II (cf. tableau V).

TABLEAU V.

| TYPES | REGIONS | | | | |
|--------------------|---------|------|--------|-----|--------|
| | Paris | Nord | Centre | Sud | Divers |
| I-4-III-6 (9)(10) | 2 | | 1 | | |
| I-4-11 (12) | 1 | | | 1 | |
| I-4-5-8-12 (6)(9) | 2 | 1 | | | |
| I-4-5-12 | | 1 | | | |
| I-4-5-6-9-11-12-13 | | 1 | | | |
| I-4-II-5-8-11-12 | 1 | | | | |

c) Souches présentant des réactions très voisines de celles du groupe précédent, mais s'en séparant nettement par l'absence d'agglutinogène I (cf. tableau VI).

TABLEAU VI.

| TYPES | REGIONS | | | | |
|---------------------|---------|------|--------|-----|--------|
| | Paris | Nord | Centre | Sud | Divers |
| 4-II-5-6-9-10-12 | | 1 | | | |
| 4-III-6-9-12 | 1 | | | | |
| 4-III-5-6-8-9-12-13 | | 1 | | | |
| 4-III-5-6-10-11-12 | | | | 1 | |

d) Souches présentant une réaction positive avec le sérum I ainsi qu'une ou plusieurs des réactions caractérisant le type 9-12 (III, 5, 6, 8, 10, 11, 13). Ce groupe est particulièrement hétérogène car nous avons été obligés, pour simplifier, d'y inclure

quelques souches ne possédant à côté de l'agglutinogène I qu'un des agglutinogènes du type mixte 9-12 (III, 5, 6, 8, 10, 11, 13) (*cf.* tableau VII).

TABLEAU VII.

| TYPES | REGIONS | | | | |
|----------------|---------|------|--------|-----|--------|
| | Paris | Nord | Centre | Sud | Divers |
| I-9-12 (5) (6) | 4 | | 1 | 1 | |
| I-9-10-12 (5) | | | 2 | 1 | |
| I-III-5-6-9-12 | | 1 | | 1 | |
| I-12 (III) (6) | 1 | 1 | 2 | | |
| I-9 (5) | 2 | | 2 | | 1 |
| I-11 (9) | | | 1 | 1 | |
| I-6 (III) (5) | 1 | 2 | 1 | | |

e) Souches non agglutinées par les sérums I, 4 et 7 et pouvant se rapprocher des souches du type 9-12 (III, 5, 6, 8, 10, 11, 13) bien qu'elles ne présentent souvent qu'un très petit nombre des réactions caractéristiques de ce groupe (*cf.* tableau VIII).

TABLEAU VIII.

| TYPES | REGIONS | | | | |
|---------------------|---------|------|--------|-----|--------|
| | Paris | Nord | Centre | Sud | Divers |
| III-6-9-10 (5) (13) | 2 | | 2 | | |
| 5-6-9-10 (8) | | 1 | | 1 | |
| 5-8-12 (III) (13) | 1 | 2 | | | |
| 5-6-11-13 (9) | | 1 | | | 1 |
| III-6 (9) (11) | 3 | | | | |
| III-6-8-13 | | 1 | | | |
| II-5-6-12 | 1 | | | | |
| 9-11 | 1 | | | | |

Différentes conclusions peuvent être tirées de l'examen du tableau I et des tableaux complémentaires en ce qui concerne la fréquence relative des différents types individualisés et leur répartition géographique.

Tout d'abord et en ce qui concerne le premier point, les faits suivants ont pu être mis en évidence :

1° Trois types de souches, les types I, I-II-5 et 9-12 (III, 5, 6, 8, 10, 11, 13) apparaissent comme nettement prédominants,

puisque'ils représentent respectivement 18,8 p. 100, 32,9 p. 100 et 19,3 p. 100 soit au total 71 p. 100 des 559 souches étudiées.

2° Les souches présentant un type sérologique simple autre que le type I sont relativement très rares, puisque nous en avons individualisé seulement 34 soit 6,1 p. 100 réparties en sept types différents.

3° Un nombre relativement important de souches (72, soit 12,9 p. 100) appartenant à des types mixtes et présentant des réactions très variées a été mis en évidence. Bien que la plupart de ces souches paraissent présenter une composition antigénique particulière, il a été possible de les rassembler, au moins provisoirement, en cinq sous-groupes en fonction de l'existence à leur surface d'un agglutinogène prédominant ou de combinaisons caractéristiques d'antigènes.

4° 52 souches soit 9,3 p. 100 des souches éprouvées, n'ont réagi avec aucun des treize sérums utilisés. Comme on le verra plus loin, il s'agit très probablement de souches dont l'agglutinogène type n'a pas encore été identifié.

5° Quatre souches seulement, soit 0,7 p. 100, ont présenté une agglutination spontanée et n'ont pu être typées pour cette raison.

Du point de vue de la répartition géographique des différents types individualisés, il ressort de cette étude que les staphylocoques isolés dans des régions de France relativement très éloignées semblent appartenir aux mêmes types quelle que soit la région étudiée et que, de plus, la proportion relative des différents types mis en évidence est assez comparable d'une région à l'autre.

DISCUSSION.

Les deux questions étudiées au cours de ce travail concernaient d'une part la validité de la méthode d'analyse sérologique des staphylocoques, et, d'autre part, celle de la fréquence relative et de la répartition des principaux types de staphylocoques rencontrés en France.

En ce qui concerne le premier point, la méthode utilisée nous a paru satisfaisante, une individualisation assez précise de la très grande majorité des souches étudiées ayant pu être réalisée sans difficulté particulière. En effet, mis à part un nombre insignifiant de souches agglutinant spontanément, 9,3 p. 100 seulement des souches éprouvées n'ont pu être typées à l'aide des treize sérums utilisés. Il est possible que ces souches soient trop pauvres en

agglutinogènes pour que la réaction d'agglutination puisse devenir positive, mais il est vraisemblable qu'il s'agit pour une part de souches dont l'agglutinogène type n'a pas été encore identifié. En effet, nous avons constaté que 28 de ces souches sur 52 pouvaient être agglutinées spécifiquement par un sérum différent des treize sérums types utilisés, ce qui semble indiquer l'existence à la surface de ces souches d'un agglutinogène différent des treize précédemment décrits. L'étude détaillée de la mise en évidence de cet agglutinogène sera faite dans une prochaine note.

Certaines critiques peuvent être adressées à la méthode quant à la reproductibilité des résultats, des variations dans l'intensité des réactions pouvant être constatées d'un typage à l'autre. Ces variations ne sont pas d'une ampleur suffisante pour modifier les réactions caractéristiques prédominantes des souches typables, mais elles ont quelquefois pour conséquence d'annuler certaines réactions d'agglutination de faible intensité, ce qui complique les essais de classification et peut amener à discuter la valeur de telles réactions en matière d'individualisation sérologique des staphylocoques. Il est difficile de se prononcer actuellement sur cette question et nous indiquerons simplement ici que ces variations ne nous ont pas gênés considérablement au cours de ce travail et qu'il sera vraisemblablement possible dans l'avenir de les éviter grâce à l'utilisation de sérums à la fois plus actifs et plus spécifiques et à la connaissance des facteurs influençant la synthèse des agglutinogènes. Quoi qu'il en soit, la méthode utilisée, techniquement simple lorsque l'on dispose des sérums absorbés, permet d'ores et déjà de résoudre dans une très large mesure le problème de l'individualisation des staphylocoques.

D'autre part et du point de vue de la distribution des staphylocoques pathogènes isolés en France, les résultats obtenus montrent qu'il existe trois groupes principaux numériquement prédominants, puisque 71 p. 100 des souches appartiennent à l'un de ces trois groupes, et, par ailleurs, des types très variés comprenant chacun un très petit nombre de souches.

La connaissance des types prédominants, indépendamment de son intérêt propre, peut avoir quelques conséquences d'ordre pratique. D'une part, elle incitera à interpréter avec prudence les résultats des études épidémiologiques (contamination hospitalière et intoxications alimentaires) et, d'autre part, elle devrait amener à inclure dans les préparations de stock-vaccin des corps microbiens appartenant aux trois types principaux. On notera, qu'à l'opposé, l'existence d'un pourcentage non négligeable de souches présentant une composition antigénique particulière semble devoir par contre justifier la thérapeutique des staphylococcies par les auto-vaccins.

CONCLUSIONS.

Au cours de ce travail concernant essentiellement l'analyse sérologique de 559 souches de staphylocoques coagulase-positifs, d'origine géographique variée, nous avons montré que la méthode d'agglutination sur lame à l'aide des treize sérums types convenablement absorbés permettait, bien qu'encore imparfaite, de classer d'ores et déjà les staphylocoques avec suffisamment de précision.

Il ressort de cette étude que la proportion des souches correspondant aux différents types est très inégale, puisque 71 p. 100 des souches ont pu être groupées en trois types principaux et, qu'en ce qui concerne les autres souches, mises à part 9,3 p. 100 de souches non typables, elles se répartissent en un grand nombre de types différents.

Cette première étude justifie donc l'emploi ultérieur de la méthode d'analyse sérologique des staphylocoques, méthode qui devrait permettre d'obtenir des renseignements nouveaux concernant la composition antigénique de surface des staphylocoques, ces renseignements devant très probablement faciliter dans l'avenir la solution des problèmes posés par l'infection staphylococcique.

SUMMARY

SEROLOGICAL STUDIES ON 559 STRAINS OF PATHOGENIC STAPHYLOCOCCI ISOLATED IN FRANCE.

Serological analysis of 559 strains of coagulase-positive staphylococci from various geographical origin. The slide-agglutination technique and the use of thirteen type sera allow to classify the staphylococci with sufficient accuracy.

The findings show that :

1. Three types : I, I-II-5 and 9-12 (III-5-6-8-10-11-13) are markedly predominant ; they respectively represent 18,8 %, 32,9 % and 19,3 %, i. e. on the whole 71 % of the 559 strains studied.

2. The strains possessing a simple serotype other than type I are relatively rare ; only 34 (6,1 %), representing seven different types, were isolated.

3. A relatively high number of strains (72, i. e. 12,9 %) belonging to mixed types and showing various reactions, were demons-

trated. In order to simplify, these strains were provisorily classified in five sub-groups, according to the presence on their surface of a predominant agglutinin or of characteristic combinations of antigens.

4. Fifty-two strains (9,3 %) showed no reaction with any of the thirteen sera used.

5. Only four strains (0,7 %) showed spontaneous agglutination and could therefore not be typed.

As to the geographical distribution in France of the various types characterized, the study shows that staphylococci isolated in very different regions seem to belong to the same types, whichever the region studied, and that moreover the relative proportion of the various types is rather comparable from one region to the other.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BROWN (J.). *J. Path. Bact.*, 1960, **79**, 257.
 - [2] CHRISTIE (R.) and KEOGH (E. V.). *J. Path. Bact.*, 1940, **51**, 189.
 - [3] COWAN (S. T.). *J. Path. Bact.*, 1939, **48**, 169.
 - [4] HOBBS (B. C.). *J. Hyg.*, 1948, **46**, 222.
 - [5] MERCIER (P.), PILLET (J.) et CHABANIER (G.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1950, **78**, 457.
 - [6] PILLET (J.) et ORTA (B.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1953, **84**, 420.
 - [7] PILLET (J.), ORTA (B.) et FOUCAUD (M.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1960, **98**, 701.
-

CARACTÉRISATION IMMUNOCHIMIQUE DES RIBOSOMES

par E. BARBU, J. PANIJEL et G. QUASH (*)
(avec la collaboration technique de J.-P. DANDEU).

(*Institut Pasteur, Service du D^r Wahl*)

INTRODUCTION.

La présence constante dans le cytoplasme de cellules bactériennes, animales ou végétales, de particules ribonucléoprotéiques ou ribosomes, l'uniformité de structure et de constitution de ces particules, nous ont paru justifier l'étude de leurs propriétés immunochimiques.

Nous avons ainsi pu montrer (Barbu et coll. [3], Panijel et Barbu [9]) que les ribosomes sont de bons antigènes et que les sérums anti-ribosomes réagissent et forment des précipités spécifiques non seulement avec les ribosomes ayant servi à l'immunisation, mais encore avec les ribosomes d'origines les plus diverses. En outre, nous avons montré que les sérums anti-ribosomes précipitent les préparations d'ARN (Barbu et Panijel [2]).

Ces premiers résultats suggéraient l'hypothèse selon laquelle les ribosomes pourraient contenir trois types principaux de motifs antigéniques :

1° Les motifs antigéniques communs à tous les ribosomes de n'importe quel organisme.

2° Les motifs antigéniques communs seulement aux ribosomes de certaines espèces.

3° Les motifs antigéniques strictement spécifiques, dont l'existence se traduit par des différences de comportement immunologique entre ribosomes appartenant à des organismes de même espèce (1).

(*) *Société Française de Microbiologie*, séance du 2 février 1961.

(1) Il n'est pas exclu d'ailleurs qu'on puisse également mettre en évidence certaines différences entre ribosomes appartenant à un même tissu et peut-être à une même cellule.

Les résultats que nous présentons dans ce mémoire confirment l'existence des deux premiers types de motifs antigéniques ; nous nous réservons de revenir ultérieurement sur les problèmes posés par la mise en évidence du troisième type de motifs envisagé.

MATÉRIEL ET MÉTHODES.

1° *Les ribosomes*, d'origines bactériennes très diverses, extraits en milieu $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Mg}$ M/100, Tris M/200, pH 7,4 par une méthode analogue à celle de Tissières et Watson [41], sont généralement purifiés par quatre cycles de centrifugation successifs. Dans ces conditions, les ribosomes que nous obtenons correspondent aux formations caractérisées par les constantes de sédimentation 70 S et 100 S.

Les rapports d'absorption U. V. sont en moyenne de 1,85 pour $\frac{E_{2600}}{E_{2800}}$

et de 1,8 pour $\frac{E_{2600}}{E_{2330}}$. Les préparations contiennent de 60 à 65 p. 100 d'ARN et de 35 à 40 p. 100 de protéines. Dans le milieu ci-dessus, la valeur de la densité optique à 2 600 Å est de 0,024 pour 1 µg/ml d'ARN ribosomal ; cette valeur d'absorption correspond donc en moyenne à 1,66 µg/ml de ribosomes.

Les ribosomes sont conservés dans le milieu de préparation à — 20°.

2° *Les immunsérums* sont obtenus par séries d'injections intra-veineuses chez le lapin et chez la chèvre. On a également préparé des immunsérums par la méthode de Rosa Augustin [4], qui comporte une série d'injections simultanées effectuées par diverses voies après mélange des ribosomes à l'adjuvant de Freund.

3° *Les réactions de précipitation* effectuées en double pour chaque expérience, sont étudiées quantitativement par la méthode suivante : à une quantité fixe d'immunsérum, on ajoute un volume constant de différentes dilutions de suspensions antigéniques contenant une quantité de ribosomes connue. Après séjour de quatre à seize heures à froid, on centrifuge à + 4° C et on lave deux fois les précipités spécifiques par 2,5 ml du milieu suivant : NaCl 0,1 M, $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Mg}$ 0,0033 M, Tris 0,0017 M, pH 7,4, puis on dose les protéines et l'ARN. Les protéines sont dosées par la méthode de Lowry et coll [8]. L'ARN est d'abord extrait des précipités par action de l'acide perchlorique (0,5 N) pendant vingt-quatre heures à 37° ; puis cet extrait est dosé par spectrophotométrie ; dans le milieu perchlorique, la valeur de l'absorption optique à 2 600 Å est de 0,029 pour 1 µg/ml d'ARN ; cette valeur est établie par dosage parallèle du P par la méthode de King [6] et du ribose par la méthode de Ceriotti [5].

Quant aux protéines d'origine ribosomiale présentes dans les précipités, elles ne peuvent être dosées directement, mais représentent en moyenne les 2/3 du chiffre d'ARN trouvé. La quantité totale d'antigène présente dans un précipité spécifique sera donc évaluée d'après la quantité d'ARN, en appliquant à cette dernière le coefficient 1,66.

RÉSULTATS.

A. PRÉCIPITATION EN FONCTION DE LA QUANTITÉ D'ANTIGÈNE. — Dans une première série d'expériences, nous avons étudié les conditions de précipitation des ribosomes d'origines diverses ajoutés en quantité croissante à différents antisérums. On a ainsi affaire soit à des réactions homologues lorsque les ribosomes

TABEAU I. — Précipitation des ribosomes par le sérum de lapin anti-ribosomes de *Proteus vulgaris*.

| ORIGINE DES RIBOSOMES | µg DE RIBO- SOMES POUR 1 ml d'ANTI- SÉRUM | µg DE PROTÉI- NES DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ANTI- CORPS* DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ARN DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ANTI- GÈNE* DANS LE PRÉCIPITÉ | ANTICORPS ANTIGÈNE |
|---|--|---|---|----------------------------------|--|-----------------------|
| <i>Proteus vulgaris</i> .. | 417 | 2 700 | 2 563 | 205 | 342 | 7,5 |
| | 834 | 3 650 | 3 390 | 390 | 650 | 5,2 |
| | 1 668 | 5 200 | 4 694 | 760 | 1 266 | 3,7 |
| | 3 336 | 5 900 | 5 214 | 1 030 | 1 716 | 3,0 |
| | 6 672 | 6 500 | 5 900 | 900 | 1 500 | 3,9 |
| <i>E. coli</i> K ₁₂ 3 000.. | 459 | 2 050 | 1 886 | 245 | 409 | 4,6 |
| | 918 | 3 600 | 3 300 | 450 | 750 | 4,4 |
| | 1 836 | 5 100 | 4 566 | 800 | 1 334 | 4,2 |
| | 3 672 | 5 300 | 4 600 | 1 050 | 1 750 | 2,6 |
| | 6 672 | 4 100 | 3 580 | 780 | 1 300 | 2,8 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 366 | 1 100 | 1 004 | 143 | 239 | 4,2 |
| | 732 | 1 560 | 1 394 | 250 | 416 | 3,3 |
| | 1 464 | 2 500 | 2 166 | 500 | 834 | 2,6 |
| | 2 928 | 2 800 | 2 366 | 650 | 1 084 | 2,2 |
| <i>Alcaligenes faecalis</i> . | 480 | 1 024 | 844 | 270 | 450 | 1,9 |
| | 960 | 1 200 | 924 | 414 | 690 | 1,3 |
| | 1 920 | 1 040 | 772 | 403 | 671 | 1,1 |
| | 3 840 | 584 | 442 | 214 | 356 | 1,2 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 174 | 392 | 342 | 76 | 126 | 1,9 |
| | 348 | 528 | 434 | 142 | 236 | 1,9 |
| | 696 | 865 | 691 | 260 | 434 | 1,6 |
| | 1 392 | 976 | 696 | 420 | 700 | 1,0 |
| <i>Welchia perfringens</i> | 160 | 400 | 360 | 61 | 101 | 3,6 |
| | 320 | 480 | 406 | 110 | 184 | 2,2 |
| | 640 | 520 | 410 | 166 | 276 | 1,5 |
| | 1 280 | 488 | 380 | 161 | 269 | 1,4 |

* µg d'anticorps : quantité calculée à partir de la quantité totale de protéines des précipités après déduction des protéines ribosomiales précipitées. — µg d'antigène : somme des protéines ribosomiales et de l'ARN présents dans les précipités. Rappelons que la quantité de protéines ribosomiales précipitées est évaluée aux 2/3 de l'ARN précipité.

en expérience sont de même origine que ceux ayant servi à l'immunisation, soit à des réactions hétérologues lorsque les ribosomes sont d'origine différente.

TABLEAU II. — Précipitation des ribosomes par le sérum de lapin anti-ribosomes de *Salmonella typhimurium*.

| ORIGINE DES RIBOSOMES | µg DE RIBO- SOMES POUR 1 ml d'ANTI- SÉRUM | µg DE PROTÉI- NES DANS LE PRÉCIPITÉ | µg d'ANTI- CORPS* DANS LE PRÉCIPITÉ | µg d'ARN DANS LE PRÉCIPITÉ | µg d'ANTI- GÈNE* DANS LE PRÉCIPITÉ | ANTICORPS ANTIGÈNE |
|---|--|---|---|----------------------------------|--|-----------------------|
| <i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i> | 333 | 2 800 | 2 680 | 180 | 300 | 8,9 |
| | 667 | 5 400 | 5 186 | 320 | 534 | 9,7 |
| | 1 167 | 7 600 | 7 247 | 530 | 883 | 8,2 |
| | 1 668 | 8 650 | 8 144 | 760 | 1 266 | 6,4 |
| | 3 336 | 12 600 | 11 600 | 1 500 | 2 500 | 4,6 |
| | 6 672 | 18 250 | 16 584 | 2 500 | 4 166 | 4,0 |
| <i>E. coli</i> K ₁₂ 3 000.. | 417 | 3 500 | 3 346 | 230 | 384 | 8,7 |
| | 834 | 5 100 | 4 794 | 460 | 766 | 6,3 |
| | 1 459 | 8 000 | 7 486 | 770 | 1 284 | 5,8 |
| | 2 084 | 8 600 | 7 866 | 1 100 | 1 834 | 4,3 |
| | 4 166 | 12 000 | 10 567 | 2 150 | 3 583 | 2,9 |
| | 8 333 | 14 000 | 11 900 | 3 150 | 5 250 | 2,3 |
| <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> | 250 | 1 120 | 1 046 | 111 | 185 | 5,6 |
| | 500 | 1 350 | 1 204 | 220 | 366 | 3,3 |
| | 1 000 | 2 550 | 2 270 | 420 | 700 | 3,2 |
| | 1 750 | 3 100 | 2 640 | 690 | 1 150 | 2,3 |
| | 2 500 | 3 500 | 2 947 | 830 | 1 383 | 2,1 |
| | 5 000 | 3 800 | 3 206 | 890 | 1 484 | 2,2 |
| <i>Welchia perfringens</i> | 225 | 1 100 | 1 026 | 110 | 184 | 5,5 |
| | 450 | 1 300 | 1 186 | 170 | 284 | 4,1 |
| | 900 | 1 400 | 1 190 | 315 | 525 | 2,3 |
| | 1 575 | 1 800 | 1 514 | 430 | 716 | 2,1 |
| | 2 250 | 2 100 | 1 747 | 530 | 883 | 1,9 |
| | 4 500 | 1 900 | 1 553 | 520 | 867 | 1,8 |
| <i>Fusiformis</i> <i>fusiformis</i> | 225 | 1 160 | 1 110 | 75 | 125 | 8,9 |
| | 450 | 1 210 | 1 117 | 140 | 233 | 4,8 |
| | 900 | 1 400 | 1 234 | 250 | 416 | 3,0 |
| | 1 575 | 1 550 | 1 330 | 330 | 550 | 2,4 |
| | 2 250 | 1 750 | 1 510 | 360 | 600 | 2,5 |
| | 4 500 | 1 160 | 974 | 280 | 466 | 2,1 |

* Cf. Légende tableau I.

Les tableaux I à IV indiquent les quantités d'ARN et de protéines retrouvées dans les précipités pour 1 ml de chacun des sérums. On obtient ainsi des courbes de précipitation comparables à celles habituellement étudiées en immunologie, en por-

FIG. 1. — Pourcentage de précipitation des divers ribosomes ajoutés en quantités croissantes à 1 ml de sérum anti-ribosomes de *E. coli* K₁₂ 3000.

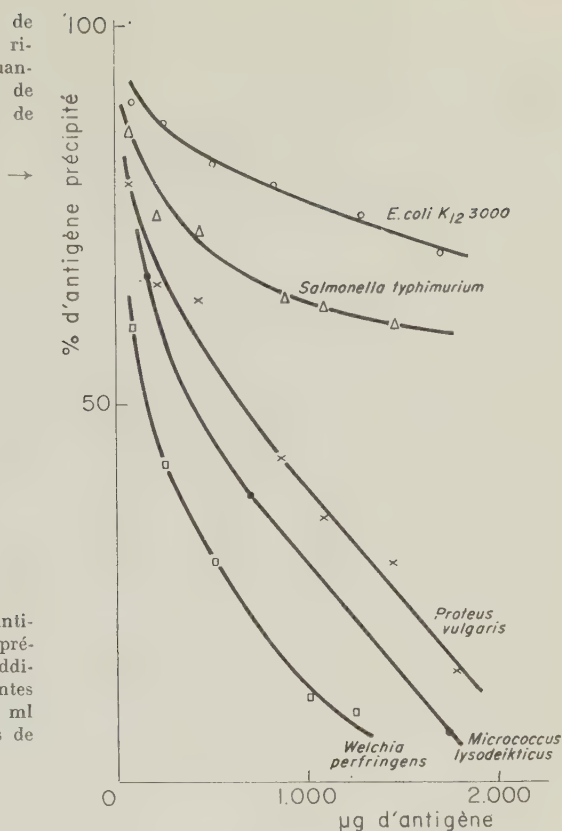
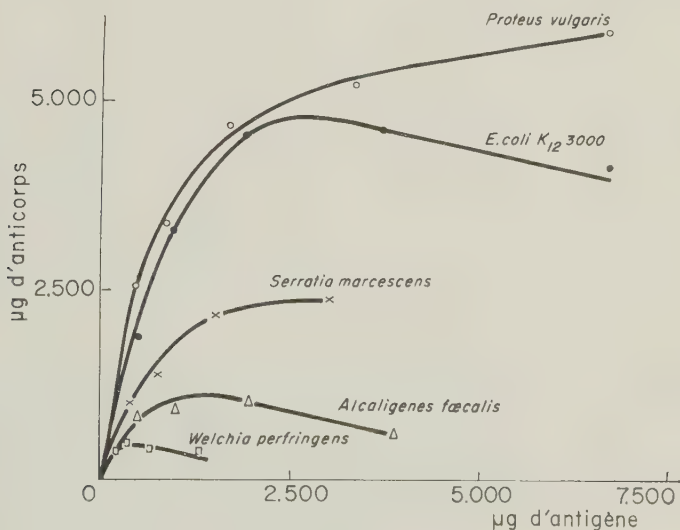


FIG. 2. — Quantités d'anticorps présentes dans les précipités obtenus par addition de quantités croissantes des divers ribosomes à 1 ml de sérum anti-ribosomes de *Proteus vulgaris*.



tant en fonction de la quantité d'antigène ajoutée, soit la quantité, soit le pourcentage d'antigène précipité (fig. 1) ; on peut également porter en fonction des quantités d'antigène ajoutées, les quantités de protéines des précipités et, plus rigoureusement, après déduction des protéines ribosomiales proprement dites, les quantités d'anticorps présentes (fig. 2).

TABLEAU III. — Précipitation des ribosomes par le sérum de lapin anti-ribosomes de *Welchia perfringens*.

| ORIGINE DES RIBOSOMES | µg DE RIBO- SOMES POUR 1 ml d'ANTI- SÉRUM | µg DE PROTÉI- NES DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ANTI- CORPS* DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ARN DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ANTI- GÈNE* DANS LE PRÉCIPITÉ | ANTICORPS ANTIGÈNE |
|---|--|---|---|----------------------------------|--|-----------------------|
| <i>Welchia perfringens</i> | 450 | 1 950 | 1 795 | 232 | 387 | 4,6 |
| | 900 | 3 300 | 2 994 | 460 | 766 | 3,9 |
| | 1 575 | 4 200 | 3 694 | 760 | 1 266 | 2,9 |
| | 2 250 | 5 100 | 4 400 | 1 050 | 1 750 | 2,5 |
| | 4 500 | 7 700 | 6 300 | 2 100 | 3 500 | 1,8 |
| | 9 000 | 9 850 | 7 850 | 3 000 | 5 000 | 1,6 |
| <i>Fusiformis</i> <i>fusiformis</i> | 450 | 1 150 | 1 024 | 190 | 316 | 3,2 |
| | 900 | 1 850 | 1 606 | 365 | 609 | 2,6 |
| | 1 575 | 2 600 | 2 224 | 565 | 941 | 2,4 |
| | 2 250 | 3 000 | 2 450 | 815 | 1 359 | 1,8 |
| | 4 500 | 4 050 | 3 224 | 1 240 | 2 066 | 1,6 |
| Streptocoque A ₂₃ ... | 234 | 750 | 672 | 116 | 194 | 3,5 |
| | 468 | 850 | 697 | 230 | 383 | 1,8 |
| | 936 | 1 150 | 844 | 460 | 766 | 1,1 |
| | 1 638 | 1 380 | 954 | 640 | 1 066 | 0,8 |
| | 2 340 | 1 420 | 940 | 720 | 1 200 | 0,8 |
| | 4 680 | 1 380 | 906 | 710 | 1 184 | 0,8 |
| <i>Haemophilus</i> <i>influenzae</i> | 450 | 530 | 416 | 170 | 284 | 1,4 |
| | 900 | 600 | 480 | 180 | 300 | 1,6 |
| | 1 575 | 900 | 704 | 295 | 491 | 1,4 |
| | 2 250 | 850 | 624 | 340 | 566 | 1,1 |
| | 4 500 | 925 | 691 | 350 | 584 | 1,2 |
| <i>E. coli</i> K ₁₂ 3 000... | 208 | 600 | 534 | 100 | 166 | 3,2 |
| | 416 | 700 | 566 | 200 | 334 | 1,7 |
| | 834 | 900 | 680 | 330 | 550 | 1,2 |
| | 1 456 | 1 000 | 726 | 410 | 684 | 1,1 |
| | 2 080 | 975 | 701 | 410 | 684 | 1,0 |
| | 4 160 | 850 | 596 | 380 | 634 | 0,9 |
| <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> | 250 | 300 | 234 | 100 | 166 | 1,4 |
| | 500 | 330 | 240 | 135 | 225 | 1,1 |
| | 1 000 | 400 | 294 | 160 | 266 | 1,1 |
| | 1 750 | 400 | 286 | 170 | 284 | 1,0 |
| | 2 500 | 400 | 290 | 166 | 276 | 1,1 |
| | 5 000 | 330 | 216 | 170 | 284 | 0,8 |

* Cf. Légende tableau I.

Un certain nombre de remarques découlent de l'examen de ces résultats :

1° On voit d'abord que les ribosomes se comportent comme de bons antigènes, puisqu'on peut retrouver dans les précipités jus-

TABLEAU IV. — Précipitation des ribosomes par le sérum de chèvre anti-ribosomes d'*E. coli* K₁₂ 3 000.

| ORIGINE DES RIBOSOMES | µg DE RIBO- SOMES POUR 1 ml d'ANTI- SÉRUM | µg DE PROTÉI- NES DANS LE PRÉCIPITÉ | µg d'ANTI- CORPS* DANS LE PRÉCIPITÉ | µg d'ARN DANS LE PRÉCIPITÉ | µg d'ANTI- GÈNE* DANS LE PRÉCIPITÉ | ANTICORPS ANTIGÈNE |
|---|--|---|---|----------------------------------|--|-----------------------|
| <i>E. coli</i> K ₁₂ 3 000.. | 87 | 720 | 688 | 47 | 79 | 8,7 |
| | 259 | 1 764 | 1 678 | 130 | 216 | 7,7 |
| | 518 | 2 816 | 2 648 | 253 | 421 | 6,31 |
| | 834 | 3 900 | 3 638 | 394 | 656 | 5,5 |
| | 1 291 | 4 500 | 4 110 | 584 | 974 | 4,2 |
| | 1 712 | 3 900 | 3 418 | 723 | 1 205 | 2,8 |
| <i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i> | 72 | 648 | 624 | 37 | 61 | 10,1 |
| | 220 | 1 500 | 1 435 | 97 | 165 | 8,8 |
| | 440 | 2 580 | 2 450 | 195 | 325 | 7,5 |
| | 880 | 3 240 | 3 018 | 333 | 555 | 5,5 |
| | 1 099 | 3 000 | 2 722 | 417 | 695 | 3,9 |
| | 1 461 | 2 420 | 2 060 | 540 | 900 | 2,3 |
| <i>Proteus vulgaris</i> .. | 72 | 516 | 494 | 34 | 56 | 8,8 |
| | 217 | 1 068 | 1 010 | 86 | 144 | 7,0 |
| | 434 | 1 800 | 1 690 | 166 | 276 | 6,1 |
| | 868 | 2 072 | 1 926 | 220 | 366 | 5,2 |
| | 1 084 | 1 830 | 1 677 | 229 | 382 | 4,4 |
| | 1 442 | 1 200 | 1 034 | 250 | 416 | 2,5 |
| <i>Shigella</i> <i>paradysenteriae</i> ... | 1 787 | 840 | 734 | 158 | 264 | 2,8 |
| | 155 | 960 | 900 | 90 | 150 | 6,0 |
| | 614 | 2 220 | 2 022 | 296 | 494 | 4,1 |
| | 834 | 1 980 | 1 800 | 270 | 450 | 4,0 |
| | 1 550 | 1 245 | 1 121 | 187 | 311 | 3,6 |
| | | | | | | |
| <i>Micrococcus</i> <i>lysodeikticus</i> | 174 | 452 | 406 | 70 | 116 | 3,5 |
| | 694 | 1 076 | 970 | 158 | 264 | 3,7 |
| | 1 734 | 580 | 536 | 67 | 111 | 4,8 |
| <i>Ristella perfratens</i> <i>c.c.i.</i> | 139 | 384 | 346 | 57 | 95 | 3,6 |
| | 555 | 804 | 731 | 110 | 183 | 4,0 |
| | 1 390 | 210 | 182 | 42 | 70 | 2,6 |
| <i>Welchia perfringens</i> | 83 | 216 | 196 | 30 | 50 | 3,9 |
| | 250 | 360 | 318 | 63 | 105 | 3,0 |
| | 501 | 504 | 446 | 88 | 146 | 3,0 |
| | 1 002 | 352 | 306 | 68 | 114 | 2,7 |
| | 1 250 | 355 | 307 | 73 | 121 | 2,5 |
| | 1 678 | 290 | 230 | 89 | 149 | 1,5 |

* Cf. Légende tableau I.

qu'à 16 mg de protéines-anticorps pour 1 ml d'immunsérum (tableau II). Bien entendu, les quantités maxima obtenues dans le cas des réactions homologues sont beaucoup plus importantes que dans les cas des réactions hétérologues.

2° En excès d'antigène, la quantité d'anticorps présente dans les précipités ne diminue que peu ou pas du tout (fig. 2). Ceci

TABLEAU V. — Précipitation des ribosomes par le sérum de lapin anti-ribosomes de *Salmonella typhimurium*.

| ORIGINE DES RIBOSOMES (830 µg DE RIBOSOMES POUR 1 ml D'ANTISÉRUM) | µg DE PRO- TÉINES DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ANTI- CORPS* DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ARN DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ANTI- GÈNE* DANS LE PRÉCIPITÉ | ANTICORPS ANTIGÈNE |
|---|---|---|----------------------------------|--|-----------------------|
| <i>Salmonella typhimurium</i> ... | 7 920 | 7 616 | 456 | 760 | 10,0 |
| <i>E. coli</i> K ₁₂ 3 300..... | 6 420 | 6 123 | 445 | 742 | 8,4 |
| <i>E. coli</i> B | 6 310 | 5 994 | 475 | 791 | 7,6 |
| <i>E. coli</i> K ₁₂ 3 000..... | 6 000 | 5 684 | 475 | 791 | 7,1 |
| <i>Proteus vulgaris</i> | 5 280 | 4 984 | 445 | 741 | 6,7 |
| <i>Shigella paradysenteriae</i> Y6R | 5 180 | 4 904 | 415 | 691 | 7,1 |
| <i>Salmonella enteritidis</i> D ₂ ... | 5 070 | 4 818 | 377 | 629 | 7,7 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 4 400 | 4 173 | 341 | 568 | 7,4 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 2 030 | 1 786 | 367 | 611 | 2,9 |
| <i>Alcaligenes faecalis</i> | 2 030 | 1 719 | 467 | 778 | 2,2 |
| <i>Welchia perfringens</i> | 1 820 | 1 616 | 305 | 509 | 3,2 |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | 1 590 | 1 432 | 237 | 395 | 3,6 |
| Streptocoque A ₂₃ | 1 360 | 1 122 | 356 | 694 | 1,6 |
| Streptocoque A ₉ | 1 210 | 1 026 | 275 | 459 | 2,3 |
| <i>Fusiformis fusiformis</i> | 1 120 | 1 019 | 152 | 253 | 4,0 |
| Streptocoque D | 1 035 | 829 | 310 | 516 | 1,6 |
| <i>Ristella perfoetens</i> C.C.I. ... | 878 | 767 | 166 | 277 | 2,8 |
| <i>B. cereus</i> | 847 | 735 | 168 | 280 | 2,6 |
| <i>Clostridium sporogenes</i> | 790 | 712 | 118 | 196 | 3,6 |
| <i>Micrococcus lysodeikticus</i> | 845 | 701 | 216 | 360 | 2,0 |

* Cf. Légende tableau I.

semble indiquer que les ribosomes présentent un certain degré d'hétérogénéité antigénique. On doit noter cependant qu'il est difficile d'augmenter au-delà d'une certaine limite la quantité de ribosomes ajoutée au milieu d'expérience sans modifier par là-même la concentration et la nature des sels ainsi que la concentration en sérum du mélange.

3° La quantité d'antigène précipité diminue également fort peu en excès d'antigène ; et le pourcentage de précipitation de l'antigène diminue de façon régulière (fig. 1).

4° En excès d'anticorps, le pourcentage d'antigène précipité tend vers 100 p. 100 (fig. 1) ; ceci semble indiquer que tous les ribosomes utilisés possèdent un antigène commun. Toutefois, on peut observer, et nous reviendrons ultérieurement sur ce point, que, lorsque ces ribosomes ont été partiellement dissociés, soit par vieillissement, soit à la suite de congélations-décongélations

TABLEAU VI. — Précipitation des ribosomes par le sérum de lapin anti-ribosomes de *Proteus vulgaris*.

| ORIGINE DES RIBOSOMES (830 µg DE RIBOSOMES POUR 1 ml D'ANTISÉRUM) | µg DE PRO- TEINES DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ANTI- CORPS* DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ARN DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ANTI- GÈNE* DANS LE PRÉCIPITÉ | ANTICORPS ANTIGÈNE |
|---|---|---|----------------------------------|--|-----------------------|
| <i>Proteus vulgaris</i> | 4 570 | 4 293 | 416 | 693 | 6,2 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | 3 880 | 3 597 | 425 | 640 | 5,6 |
| <i>E. coli</i> K ₁₂ 3 000..... | 3 840 | 3 538 | 453 | 755 | 4,7 |
| <i>Shigella paradysenteriae</i> Y6R | 3 600 | 3 311 | 434 | 723 | 4,6 |
| <i>E. coli</i> K ₁₂ 3 300..... | 3 540 | 3 256 | 426 | 710 | 4,6 |
| <i>Salmonella enteritidis</i> D ₂ | 3 500 | 3 242 | 357 | 615 | 5,3 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 3 185 | 2 956 | 344 | 573 | 5,2 |
| <i>E. coli</i> B | 3 170 | 2 860 | 465 | 775 | 3,7 |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | 1 350 | 1 183 | 250 | 417 | 2,8 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1 405 | 1 151 | 381 | 635 | 1,8 |
| <i>Alcaligenes faecalis</i> | 1 480 | 1 138 | 363 | 605 | 1,9 |
| <i>Welchia perfringens</i> | 955 | 810 | 218 | 363 | 2,2 |
| Streptocoque D | 913 | 753 | 241 | 401 | 1,9 |
| <i>Fusiformis fusiformis</i> | 698 | 609 | 134 | 221 | 2,8 |
| <i>Micrococcus lysodeikticus</i> ... | 735 | 602 | 200 | 333 | 1,8 |
| <i>Ristella perfoetens</i> C.C.I. ... | 710 | 585 | 188 | 313 | 1,9 |
| Streptocoque A ₂₃ | 643 | 499 | 217 | 361 | 1,4 |
| <i>Clostridium sporogenes</i> | 559 | 476 | 124 | 207 | 2,3 |
| Streptocoque A ₉ | 532 | 416 | 174 | 290 | 1,4 |
| <i>B. cereus</i> | 552 | 408 | 216 | 360 | 1,1 |

* Cf. Légende tableau I.

répétées, une fraction de ceux-ci (qui dans nos expériences n'excède pas 20 p. 100) cesse de précipiter même en excès d'anticorps.

5° Les rapports anticorps/antigène varient dans d'assez larges proportions (tableaux I à X).

a) Dans le cas des réactions homologues on distingue aisément deux types de précipités. Pour un premier groupe de sérums (par exemple anti-ribosomes d'*E. coli* ou anti-ribosomes de *Salmonella*), ce rapport peut atteindre une valeur de l'ordre de 10 à 15 en excès d'anticorps ; à l'équivalence, il n'est plus que de 5 à 7. Pour d'autres sérums par contre (sérums anti-ribosomes

TABEAU VII. — Précipitation des ribosomes par le sérum de lapin anti-ribosomes d'*E. coli* K₁₂ 3 000.

| ORIGINE DES RIBOSOMES (830 µg DE RIBOSOMES POUR 1 ml D'ANTISÉRUM) | µg DE PRO- TÉINES DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ANTI- CORPS* DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ARN DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ANTI- GÈNE* DANS LE PRÉCIPITÉ | ANTICORPS ANTIGÈNE |
|---|---|---|----------------------------------|--|-----------------------|
| <i>Salmonella enteritidis</i> D ₂ ... | 3 610 | 3 412 | 297 | 494 | 6,9 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> ... | 3 620 | 3 360 | 390 | 650 | 5,2 |
| <i>E. coli</i> K ₁₂ 3 000..... | 3 569 | 3 283 | 428 | 714 | 4,6 |
| <i>E. coli</i> B | 3 570 | 3 276 | 440 | 734 | 4,5 |
| <i>Shigella paradysenteriae</i> Y6R | 3 190 | 2 930 | 390 | 650 | 4,5 |
| <i>E. coli</i> K ₁₂ 3 300..... | 3 173 | 2 893 | 420 | 700 | 4,1 |
| <i>E. coli</i> Fb a | 2 970 | 2 742 | 341 | 569 | 4,8 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 2 500 | 2 294 | 310 | 516 | 4,5 |
| <i>Proteus vulgaris</i> | 2 470 | 2 222 | 372 | 620 | 3,6 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1 195 | 997 | 298 | 496 | 2,0 |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | 971 | 849 | 184 | 405 | 2,1 |
| <i>Alcaligenes faecalis</i> | 850 | 628 | 333 | 555 | 1,1 |
| Streptocoque D | 449 | 377 | 106 | 178 | 2,1 |
| <i>Micrococcus lysodeikticus</i> ... | 385 | 307 | 117 | 195 | 1,6 |
| Streptocoque A ₂₃ | 356 | 298 | 86 | 143 | 2,1 |
| <i>Welchia perfringens</i> | 332 | 278 | 81 | 135 | 2,1 |
| Streptocoque A ₉ | 284 | 222 | 93 | 155 | 1,4 |
| <i>Fusiformis fusiformis</i> | 215 | 187 | 43 | 71 | 2,6 |
| <i>Clostridium sporogenes</i> | 217 | 185 | 49 | 81 | 2,3 |
| <i>B. cereus</i> | 218 | 178 | 59 | 99 | 1,8 |
| <i>Ristella perfoetens</i> C.C.I. ... | 210 | 176 | 52 | 86 | 2,1 |

* Cf. Légende tableau I.

de *Welchia perfringens*, de streptocoque ou d'*Alcaligenes faecalis*), le rapport anticorps/antigène ne dépasse pas 5 en excès d'anticorps et reste voisin de 3 à l'équivalence. En excès d'antigène, les rapports obtenus qui sont de 2 à 3 pour le premier groupe sont inférieurs à 2 pour le deuxième groupe.

b) Dans le cas des réactions hétérologues la valeur du rapport anticorps/antigène dépend essentiellement de la nature des ribo-

somes ajoutés. On considérera précisément comme des ribosomes hétérologues « antigéniquement proches » des ribosomes ayant servi à l'immunisation, ceux qui donnent lieu à des réactions où le rapport observé est voisin de celui des réactions homologues : pour un sérum anti-ribosomes d'*E. coli*, par exemple, il

TABEAU VIII. — Précipitation des ribosomes par le sérum de lapin anti-ribosomes de *Welchia perfringens*.

| ORIGINE DES RIBOSOMES (830 µg DE RIBOSOMES POUR 1 ml D'ANTISÉRUM) | µg DE PRO- TEINES DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ANTI- CORPS* DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ARN DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ANTI- GENE* DANS LE PRÉCIPITÉ | ANTICORPS ANTIGÈNE |
|---|---|---|----------------------------------|--|-----------------------|
| <i>Welchia perfringens</i> | 2 694 | 2 448 | 369 | 615 | 4,0 |
| <i>Fusiformis fusiformis</i> | 1 821 | 1 639 | 273 | 455 | 3,6 |
| <i>Clostridium sporogenes</i> | 1 639 | 1 471 | 253 | 422 | 3,5 |
| Streptocoque D | 1 220 | 996 | 335 | 558 | 1,8 |
| Streptocoque A ₉ | 833 | 655 | 286 | 477 | 1,4 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> ... | 789 | 617 | 258 | 430 | 1,4 |
| Streptocoque A ₂₃ | 792 | 598 | 290 | 483 | 1,2 |
| <i>Salmonella enteritidis</i> D ₂ ... | 720 | 582 | 208 | 346 | 1,7 |
| <i>E. coli</i> K ₁₂ 3 000 | 677 | 543 | 200 | 333 | 1,6 |
| <i>E. coli</i> B | 646 | 492 | 232 | 386 | 1,3 |
| <i>B. cereus</i> | 616 | 472 | 216 | 360 | 1,3 |
| <i>E. coli</i> F b a | 600 | 470 | 194 | 323 | 1,5 |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | 559 | 439 | 180 | 300 | 1,5 |
| <i>Ristella perfoetens</i> C.C.I. ... | 539 | 423 | 189 | 315 | 1,3 |
| <i>Proteus vulgaris</i> | 519 | 411 | 162 | 270 | 1,5 |
| <i>E. coli</i> K ₁₂ 3 300 | 558 | 408 | 226 | 376 | 1,1 |
| <i>Micrococcus lysodeikticus</i> ... | 539 | 377 | 242 | 403 | 0,9 |
| <i>Shigella paradysenteriae</i> Y6R | 491 | 363 | 193 | 322 | 1,1 |
| <i>Alcaligenes faecalis</i> | 502 | 360 | 229 | 382 | 0,9 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 367 | 293 | 110 | 183 | 1,6 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 210 | 160 | 74 | 123 | 1,3 |

* Cf. Légende tableau I.

en est ainsi des ribosomes de *Salmonella* ou de *Proteus*. Pour les autres ribosomes hétérologues « antigéniquement lointains » ces rapports sont beaucoup plus petits que les précédents : ainsi pour un sérum anti-ribosomes de *Proteus vulgaris*, les rapports observés avec des ribosomes de *Pseudomonas aeruginosa* ou d'*Alcaligenes faecalis* sont inférieurs à 2 même en excès d'anti-corps.

B. PRÉCIPITATION COMPARÉE DES RIBOSOMES DE DIVERSES ORIGINES.

— Les courbes de précipitation des ribosomes de diverses origines se présentent toutes comme des courbes de même famille, les courbes obtenues pour les réactions homologues correspondant à des valeurs beaucoup plus élevées que les autres (fig. 2, tableaux I à IV).

Il existe cependant entre les courbes obtenues pour des ribosomes hétérologues toute une échelle de valeurs et l'on peut

TABLEAU IX. — Précipitation des ribosomes par le sérum de lapin anti-ribosomes de streptocoque A₂₃.

| ORIGINE DES RIBOSOMES (830 µg DE RIBOSOMES POUR 1 ml D'ANTISÉRUM) | µg DE PRO- TEINES DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ANTI- CORPS* DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ARN DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ANTI- GENE* DANS LE PRÉCIPITÉ | ANTICORPS ANTIGÈNE |
|---|---|---|----------------------------------|--|-----------------------|
| Streptocoque A ₂₃ | 1 690 | 1 432 | 387 | 645 | 2,3 |
| Streptocoque D | 1 590 | 1 398 | 287 | 479 | 2,9 |
| Streptocoque A ₉ | 1 361 | 1 103 | 387 | 645 | 1,7 |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | 1 235 | 1 069 | 249 | 415 | 2,6 |
| <i>Micrococcus lysodeikticus</i> ... | 912 | 742 | 255 | 418 | 1,8 |
| <i>B. cereus</i> | 682 | 578 | 156 | 260 | 2,2 |
| <i>Fusiformis fusiformis</i> | 630 | 540 | 136 | 227 | 2,4 |
| <i>Welchia perfringens</i> | 610 | 490 | 180 | 300 | 1,6 |
| <i>Clostridium sporogenes</i> | 505 | 439 | 100 | 166 | 2,6 |
| <i>E. coli</i> K ₁₂ 3 000 | 489 | 409 | 119 | 198 | 2,1 |
| <i>Salmonella enteritidis</i> D ₂ ... | 423 | 355 | 101 | 168 | 2,1 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> ... | 403 | 349 | 82 | 137 | 2,6 |
| <i>Ristella perfoetens</i> C.C.I. ... | 446 | 320 | 128 | 213 | 1,5 |
| <i>Shigella paradysenteriae</i> Y6R | 375 | 311 | 96 | 160 | 1,9 |
| <i>Proteus vulgaris</i> | 360 | 288 | 106 | 177 | 1,6 |
| <i>E. coli</i> K ₁₂ 3 300 | 327 | 272 | 82 | 138 | 2,0 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 278 | 230 | 71 | 119 | 1,9 |
| <i>Pseudomonase aeruginosa</i> ... | 225 | 184 | 61 | 103 | 1,8 |
| <i>Alcaligenes faecalis</i> | 255 | 167 | 131 | 218 | 0,8 |
| <i>E. coli</i> B. | 282 | 153 | 73 | 122 | 1,3 |

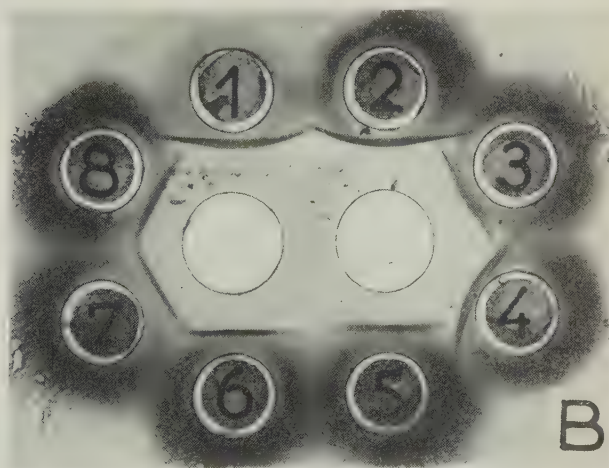
* Cf. Légende tableau I.

considérer que ces variations traduisent des différences de degré de communauté antigénique. Celle-ci sera d'autant plus grande que la quantité d'anticorps présente dans les précipités obtenus avec les divers ribosomes sera plus importante.

Nous avons donc étudié les conditions de précipitation d'une vingtaine de préparations de ribosomes d'origines très diverses



A. Diffusion en gélose sans coloration : Au centre le sérum de lapin anti-ribosomes de *E. coli* K₁₂ 3 000. A la périphérie les ribosomes de : 1. *E. coli* K₁₂ 3 000. 2. *Proteus*. 3. *Serratia*. 4. *Pseudomonas*. 5. *W. perfringens*. 6. *Streptococcus A₂₃*. 7. *B. cereus*. 8. *Alcaligenes*.



B. Diffusion en gélose suivie de coloration à la pyronine : Au centre le sérum de lapin anti-ribosomes de *Proteus*. A la périphérie les ribosomes de : 1. *E. coli* K₁₂ 3 000. 2. *Proteus*. 3. *Pseudomonas*. 4. *Serratia*. 5. *B. cereus*. 6. *W. perfringens*. 7. *Ristella*. 8. *Streptococcus A₂₃*.

avec six sérums obtenus eux-mêmes par immunisation du lapin à l'aide de ces préparations. Les résultats sont groupés dans les tableaux V à X.

On notera tout d'abord que les résultats présentent généralement un bon parallélisme, que l'on dose l'ARN ou les protéines

TABLEAU X. — Précipitation des ribosomes par le sérum de lapin anti-ribosomes d'*Alcaligenes faecalis*.

| ORIGINE DES RIBOSOMES (830 µg DE RIBOSOMES POUR 1 ml D'ANTISÉRUM) | µg DE PRO- TÉINES DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ANTI- CORPS* DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ARN DANS LE PRÉCIPITÉ | µg D'ANTI- GÈNE* DANS LE PRÉCIPITÉ | ANTICORPS ANTIGÈNE |
|---|---|---|----------------------------------|--|-----------------------|
| <i>Alcaligenes faecalis</i> | 4 120 | 3 789 | 496 | 821 | 4,6 |
| <i>Proteus vulgaris</i> | 1 982 | 1 693 | 433 | 722 | 2,3 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> ... | 1 830 | 1 577 | 410 | 683 | 2,3 |
| <i>E. coli</i> B | 1 860 | 1 553 | 460 | 767 | 2,0 |
| <i>E. coli</i> K ₁₂ 3 300 | 1 790 | 1 477 | 470 | 783 | 1,8 |
| <i>Salmonella enteritidis</i> D ₂ ... | 1 480 | 1 267 | 319 | 532 | 2,4 |
| <i>E. coli</i> F b a | 1 440 | 1 191 | 373 | 622 | 1,9 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 1 350 | 1 123 | 340 | 567 | 2,0 |
| <i>Shigella paradysenteriae</i> Y6R | 1 370 | 1 103 | 400 | 667 | 1,7 |
| <i>Welchia perfringens</i> | 1 240 | 1 007 | 349 | 582 | 1,7 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (5) | 1 270 | 1 003 | 400 | 667 | 1,5 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ancienne) | 1 118 | 895 | 335 | 558 | 1,6 |
| <i>Fusiformis fusiformis</i> | 1 010 | 881 | 193 | 322 | 2,8 |
| Streptocoque D | 1 048 | 822 | 340 | 566 | 1,5 |
| <i>Clostridium sporogenes</i> | 900 | 771 | 193 | 322 | 2,4 |
| Streptocoque A ₂₃ | 952 | 717 | 353 | 588 | 1,2 |
| <i>Micrococcus lysodeikticus</i> ... | 898 | 682 | 325 | 541 | 1,3 |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | 840 | 658 | 273 | 455 | 1,4 |
| Streptocoque A ₉ | 870 | 658 | 317 | 529 | 1,2 |
| <i>Ristella perfoetens</i> C.C.I. ... | 772 | 600 | 258 | 430 | 1,4 |
| <i>B. cereus</i> | 650 | 505 | 218 | 363 | 1,4 |

* Cf. Légende tableau I.

présents dans les précipités. Toutefois, les chiffres obtenus avec les protéines s'étagent entre des limites beaucoup plus larges et permettent ainsi de mieux saisir les différences entre les diverses préparations.

Il est d'ailleurs possible de traduire nos résultats sous forme de diagrammes tels que ceux des figures 3, 4 et 5, où l'on porte en ordonnée la quantité d'anticorps présente dans les précipités

obtenus avec une quantité constante de chacune des préparations de ribosomes (830 μg pour 1 ml de sérum). Ces résultats permettent de faire un certain nombre d'observations :

1° Pour un même immunosérum, il est possible de distinguer plusieurs types de communauté antigénique. Ainsi, par rapport à un sérum anti-ribosomes d'*E. coli*, les ribosomes de divers

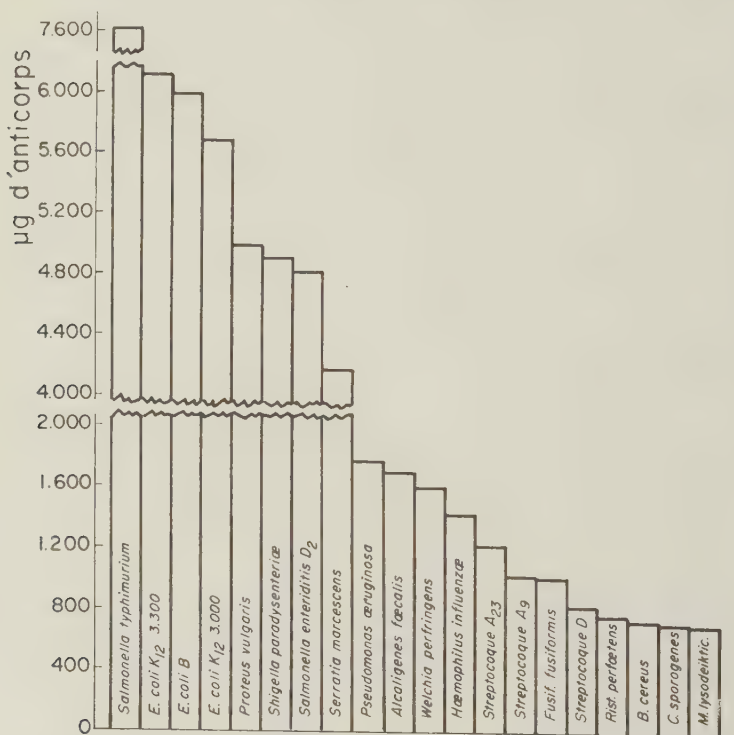


FIG. 3. — Quantités d'anticorps présentes dans les précipités obtenus après addition de 830 μg de ribosomes à 1 ml de sérum anti-ribosomes de *Salmonella typhimurium*.

E. coli, de *Salmonella typhimurium* et de *Shigella paradysenteriae* présentent un maximum de communauté antigénique. Celle-ci, déjà moindre pour *Proteus vulgaris* et *Serratia marcescens*, est encore très inférieure pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Alcaligenes faecalis*. Elle atteint un minimum pour les autres ribosomes utilisés.

2° Cette communauté antigénique peut être appréciée quantitativement : ainsi, par exemple, pour une quantité constante de

ribosomes mis en expérience (830 μ g pour 1 ml d'immunsérum anti-ribosomes de *Salmonella typhimurium*) les quantités de protéines obtenues dans les précipités (tableau V et fig. 3) correspondent à :

6 à 7 mg d'anticorps avec les ribosomes d'*E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* ;

4 à 5 mg d'anticorps avec les ribosomes de *Proteus*, *Serratia* ;

1,5 à 2 mg d'anticorps avec les ribosomes de *Pseudomonas* et *Alcaligenes* ;

0,7 à 1,5 mg d'anticorps avec les autres ribosomes.

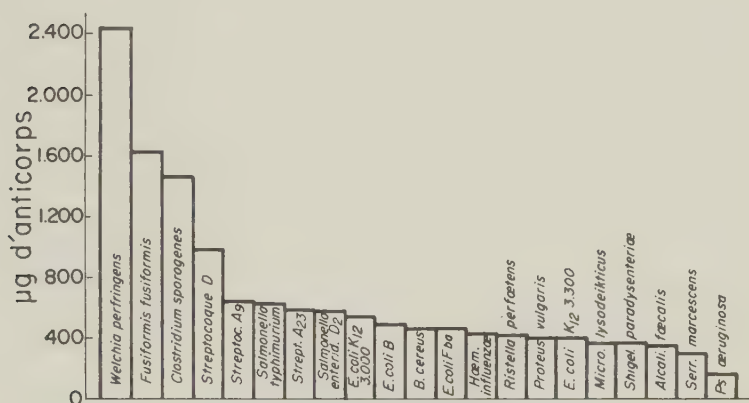


FIG. 4. — Quantités d'anticorps présentes dans les précipités obtenus après addition de 830 μ g de ribosomes à 1 ml de sérum anti-ribosomes de *W. perfringens*.

Les quantités d'anticorps précipitées et le groupement des ribosomes des diverses bactéries sont différents lorsqu'on utilise le sérum anti-ribosomes de *W. perfringens*. Dans ce cas, on obtient dans les précipités (tableau VIII et fig. 4) :

2,5 mg d'anticorps avec les ribosomes homologues ;

1,4 à 1,6 mg d'anticorps avec les ribosomes de *Clostridium*, *Fusiformis* ;

0,6 à 1 mg d'anticorps avec les ribosomes de *Streptococcus*, *Salmonella* ;

moins de 0,5 mg avec les autres ribosomes.

3° Des résultats analogues sont obtenus avec les autres immun-sérums qui permettent, pour chacun d'eux, de grouper les ribosomes de diverses origines selon leur degré de communauté antigénique vis-à-vis d'un sérum donné.

Ainsi, on peut voir en comparant les différents tableaux et diagrammes que, si l'on prépare divers antisérums contre les ribosomes de l'une ou l'autre des bactéries entrant dans l'un de ces groupes, on retrouve pour chacun de ces immunosérums un groupement analogue : par exemple, les ribosomes des divers *E. coli*, *Salmonella* et *Shigella* (et à moindre degré de *Proteus* et *Serratia*) groupés vis-à-vis d'un immunosérum anti-ribosomes

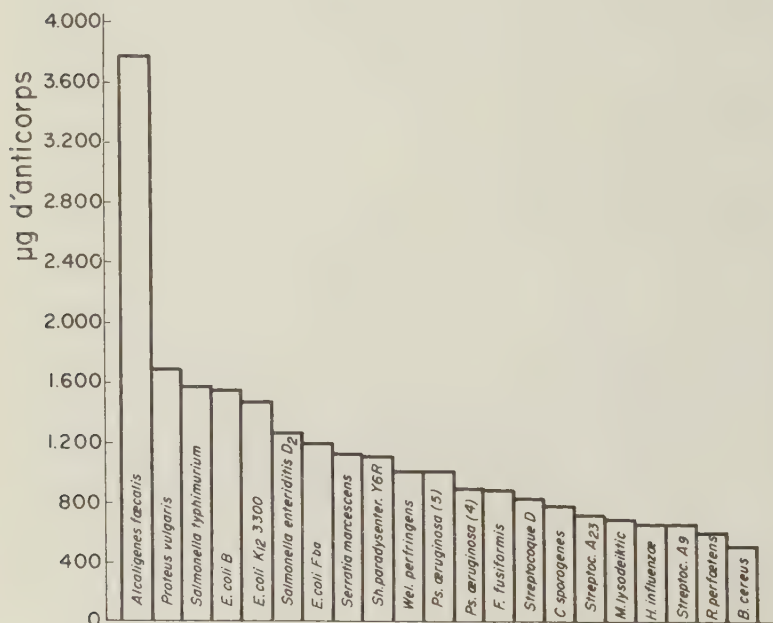


FIG. 5. — Quantités d'anticorps présentes dans les précipités obtenus après addition de 830 µg de ribosomes à 1 ml de sérum anti-ribosomes d'*Alcaligenes faecalis*.

de *Salmonella* restent également groupés pour un immunosérum anti-ribosomes d'*E. coli* ou de *Proteus*.

On pourrait envisager, en multipliant ce genre d'expériences, de décrire les ribosomes de diverses origines en termes d'antigènes de spécificité plus ou moins stricte, précipitant avec tel ou tel anticorps dans certains immunosérums.

Il apparaît cependant que les rapports de parenté immunologique entre divers ribosomes dépendent étroitement de l'immunosérum utilisé. Ainsi, avec un sérum anti-ribosomes d'*Alcaligenes faecalis*, seuls les ribosomes homologues donnent lieu à une pré-

precipitation importante d'anticorps (tableau X et fig. 5) ; tous les autres ribosomes expérimentés se comportent comme des ribosomes hétérologues « antigéniquement lointains » au sens défini plus haut.

DISCUSSION.

Les expériences que nous venons de décrire conduisent à se représenter les ribosomes comme une véritable mosaïque d'antigènes dont il est possible maintenant de circonscrire les diverses spécificités.

A. Un premier point peut être considéré comme établi : c'est que *tous les ribosomes comportent un antigène commun* ; nous avons précédemment montré que cette communauté antigénique n'intéresse pas seulement les ribosomes d'origine bactérienne, mais également ceux des tissus animaux ou végétaux (Panijel et Barbu [9]). Rappelons au surplus qu'il est hautement vraisemblable que cet antigène commun n'est autre que l'ARN. Ceci résulte de diverses observations que nous avons précédemment rapportées (Barbu et Panijel [2]) et sur lesquelles nous nous réservons de revenir en détail dans un prochain mémoire (Panijel et Barbu [10]) :

1° L'ARN libre présente un pouvoir inhibiteur marqué de la réaction de précipitation des ribosomes par un sérum hétérologue.

2° Certains immunsérums riches en anticorps précipitent l'ARN libre.

3° Le traitement des préparations d'ARN par la RNase empêche la précipitation par les antisérums.

4° Il est possible de concentrer les anticorps anti-ARN à partir d'un sérum anti-ribosomes par précipitation à l'aide de ribosomes hétérologues : le précipité est ensuite dissocié et les anticorps reprécipités à l'aide de sulfate d'ammonium.

L'ARN au sein des ribosomes est lié à des protéines mais reste cependant hydrolysable dans certaines conditions par la RNase. Ceci implique qu'une partie au moins de la molécule d'ARN ribosomal étant accessible à l'enzyme n'est pas recouverte par les protéines du ribosome. En outre, le fait que certains anticorps précipitent l'ARN, soit à l'état libre, soit à l'état d'ARN ribosomal suggère que les motifs antigéniques sont de même nature dans les deux cas : une telle observation s'accorde d'ailleurs avec les résultats obtenus, par d'autres techniques, notamment par Kurland [7], et qui permettent de penser que la configuration présentée par l'ARN dans les ribosomes est conservée en solu-

tion à l'état libre. Cependant, on doit noter que pour une même quantité d'antisérum, l'ARN ribosomal précipite davantage que l'ARN libre. Cela tient sans doute à ce que les ARN des ribosomes étant partiellement couverts par les protéines, une plus faible surface est disponible pour la fixation des anticorps : autrement dit, il faudra une plus grande quantité d'ARN à l'état de ribosomes que d'ARN à l'état libre (dont tous les motifs antigéniques sont disponibles) pour fixer un même nombre de molécules d'anticorps. Cette hypothèse pourrait également rendre compte du fait que l'ARN libre fixe jusqu'à 40 fois son poids d'anticorps alors que l'ARN ribosomal ne le fixe au plus que 5 fois.

Il est toutefois possible qu'il faille faire également intervenir ici :

a) La taille des ribosomes qui, étant plus grande que celle des molécules d'ARN libre, favorise la précipitation par les anticorps ;

b) L'existence de fortes charges négatives conférant à l'ARN libre un degré de solubilité qui ne peut être diminué que par une quantité importante d'anticorps, tandis que dans les ribosomes ces charges sont en partie neutralisées par les protéines ribosomiales dont on sait le caractère basique.

Au surplus, en diffusion en gélose (pl., fig. A et B) certains ribosomes présentent plus de lignes communes entre eux que d'autres ; mais tous les ribosomes possèdent au moins une ligne commune ; la coloration par la pyronine (Uriel et Avrameas [42]) montre que les bandes contenant l'ARN présentent une telle continuité, puisque cette coloration disparaît après traitement des plaques par la RNase (Barbu et coll. [4]).

B. Si la communauté antigénique supportée par l'ARN intéresse tous les ribosomes, il est *d'autres degrés de communauté antigénique moins étendue intéressant seulement certains ribosomes* et non pas d'autres. Tel est le cas des ribosomes de *Proteus* et de *Serratia* qui précipitent davantage avec un sérum anti-ribosomes d'*E. coli* ou de *Salmonella* que les autres ribosomes. Il en est de même pour les ribosomes de *Fusiformis* et de *Clostridium* qui précipitent mieux avec un sérum anti-ribosomes de *W. perfringens* qu'avec des sérums anti-ribosomes de *Proteus*, *E. coli* ou *Salmonella*.

Or, la précipitation de ces ribosomes n'est pas sensiblement inhibée par l'addition d'ARN libre. *Cela permet d'attribuer à la partie protéique cette parenté antigénique* seule responsable des grandes différences observées entre les divers taux de précipitation. En fait, on peut même admettre que, si l'ARN était le

seul antigène commun, les divers ribosomes présenteraient par rapport à un sérum hétérologue des taux de précipitation très voisins.

Le rôle joué par le constituant protéique dans ces réactions est d'autant plus vraisemblable que les conditions de précipitation y sont très différentes de celles qu'on peut observer dans le cas de la précipitation d'ARN libre par un antisérum donné : celle-ci est, avec les divers échantillons que nous avons étudiés, du même ordre de grandeur quelle que soit la provenance de l'ARN (Barbu et Panijel [2]). Il faut toutefois tenir compte de la difficulté qu'il y a à connaître et à garder constante, en présence des sérums, la répartition de taille des particules d'ARN. L'hétérogénéité de taille pourrait, en effet, influencer la précipitation autant que la spécificité.

Cette communauté antigénique d'origine protéique entre les différents types de ribosomes bactériens que nous avons étudiés, n'est liée ni au caractère respiratoire (aérobiose-anaérobiose), ni

au rapport $\frac{A + T}{G + C}$ des ADN des bactéries respectives. La classification par le Gram recouvrirait assez bien la séparation en deux grandes familles qui apparaît sur nos diagrammes, mais là encore il faut noter l'exception des ribosomes de *Fusiformis* (Gram —), qui semblent beaucoup plus proches des ribosomes de *W. perfringens* (Gram +) que des ribosomes des autres bactéries Gram-négatives.

Toutefois, il n'est pas sans intérêt de souligner qu'une telle communauté antigénique peut s'observer chez des bactéries très éloignées du point de vue de la classification bactériologique : de tels « apparentements », liés à la nature de tel ou tel constituant protéique des ribosomes, présentent peut-être une certaine importance du point de vue de l'étude physiologique.

C. Outre les antigènes communs — ribonucléiques ou protéiques — les ribosomes d'une même origine pourraient cependant contenir des *motifs antigéniques spécifiques*. L'aspect des courbes de précipitation des ribosomes avec les sérums homologues peut d'ailleurs être interprété comme une indication en faveur de l'hétérogénéité antigénique des préparations.

Dans cette perspective, la question se pose de savoir à quel niveau se situent les antigènes spécifiques. Chacune de nos préparations contient en effet tous les types de ribosomes présents dans les cellules d'une même espèce. Or, si nos résultats montrent que de telles préparations contiennent — en dehors de l'ARN — un grand nombre d'antigènes protéiques, nous ne pouvons savoir si chaque ribosome contient tous ces antigènes ou bien un certain nombre d'entre eux (ou même à la limite un seul

d'entre eux). Il est ainsi possible que chaque cellule contienne un certain nombre de types de ribosomes se distinguant par un ou plusieurs caractères antigéniques propres qui se trouveraient eux-mêmes noyés dans la multitude des caractères antigéniques communs des ribosomes.

Peut-être faut-il concevoir que les protéines des ribosomes, dont les caractères d'insolubilité en l'absence d'ARN sont bien particuliers, constituent une classe de protéines, comme il en est par exemple des γ -globulines. De faibles différences de structure entraîneraient des différences de précipitation en présence des anticorps et ces dernières ne feraient en somme que traduire une variation continue de structure des protéines des divers ribosomes : chaque ribosome d'une cellule contiendrait ainsi, d'une part une quantité plus ou moins grande d'une certaine protéine (identique éventuellement à celle présente dans les ribosomes d'autres cellules), d'autre part, une certaine quantité de protéines spécifiques, peut-être dotées d'ailleurs de fonctions enzymatiques.

RÉSUMÉ.

Les ribosomes d'origines bactériennes très diverses constituent de bons antigènes. Les immunosérums anti-ribosomes donnent lieu à des réactions de précipitation soit avec des ribosomes homologues, soit avec des ribosomes hétérologues. L'étude quantitative de ces réactions montre une grande différence de comportement entre les divers ribosomes hétérologues et permet de mettre en évidence trois niveaux de communauté antigénique différents :

1° Un antigène commun à tous les ribosomes, représenté par l'ARN lui-même. Certains ribosomes ne précipitent que grâce à cet antigène (« ribosomes hétérologues lointains »). Pour ces derniers le taux d'anticorps présents dans les précipités est toujours du même ordre de grandeur. Dans les conditions de nos expériences, la quantité d'anticorps ainsi précipitée reste relativement faible et ne dépasse pas 1 000 μ g par ml de sérum.

2° Des antigènes communs seulement aux ribosomes de certaines espèces. Ces antigènes de nature protéique sont responsables de la précipitation d'une quantité importante d'anticorps qui peut atteindre dans certains cas 8 mg/ml de sérum. Il est ainsi possible de reconnaître comme des ribosomes proches les uns des autres (« ribosomes hétérologues proches ») d'une part les ribosomes d'*E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Serratia*, d'autre part, les ribosomes de *W. perfringens*, *Clostridium sporogenes* et *Fusiformis*.

3° Des antigènes spécifiques, également de nature protéique et qui rendent compte de l'individualité même des ribosomes considérés.

La signification immunologique et l'intérêt physiologique de ces observations sont discutés.

SUMMARY.

IMMUNOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF RIBOSOMES.

The ribosomes of very diverse bacterial origin possess a high antigenic potency. The anti-ribosomal sera precipitate the homologous as well as the heterologous ribosomes. From an examination of the differences in the quantitative reactions of the heterologous ribosomes, it was concluded that there exists three levels of antigenic community.

1. An antigen common to all the ribosomes in the form of RNA itself. It is only this RNA antigen which reacts with antibody in the case of certain ribosomes i.e. « distant heterologous ribosomes », and for these the amount of antibody present in the precipitate is always the same. In fact this quantity of antibody precipitated is relatively small, and in the conditions of our experiment does not exceed 1 000 µg per ml serum.

2. Antigens common only to the ribosomes of certain species. These antigens themselves of a protein nature, account for a large portion of the total antibody precipitated, which can attain values up to 8 mg per ml of serum. Thus, it is possible to recognize as ribosomes close to each other i.e. « neighbouring heterologous ribosomes », on one hand, the ribosomes of *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Serratia*, and on the other the ribosomes of *W. perfringens*, *Clostridium sporogenes* and *Fusiformis*.

3. Specific antigens, also of a protein nature, and which correspond to the individuality itself of the ribosomes studied.

We have discussed in the text the immunological significance and physiological interest of these observations.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] AUGUSTIN (R.). *Immunology*, 1959, **2**, 1.
- [2] BARBU (E.) et PANIJEL (J.). *C. R. Acad. Sci.*, 1960, **250**, 1382.
- [3] BARBU (E.), PANIJEL (J.), CAYEUX (P.) et WAHL (R.). *C. R. Acad. Sci.*, 1959, **249**, 338.
- [4] BARBU (E.), PANIJEL (J.) et DANDEU (J.-P.). (A paraître.)
- [5] CERIOTTI (G.). *J. biol. Chem.*, 1955, **214**, 59.
- [6] KING (E. J.). *Biochem. J.*, 1932, **26**, 292.

- [7] KURLAND (C. G.). *J. molecular Biol.*, 1960, **2**, 83.
 - [8] LOWRY (O. H.), ROSENBOUGH (N. J.), FARR (A. L.) et RANDALL (R. J.).
J. biol. Chem., 1951, **193**, 265.
 - [9] PANIJEL (J.) et BARBU (E.). *C. R. Acad. Sci.*, 1960, **250**, 232.
 - [10] PANIJEL (J.) et BARBU (E.). *C. R. Acad. Sci.* (sous presse).
 - [11] TISSIÈRES (A.) et WATSON (J. D.). *Nature*, 1958, **182**, 778.
 - [12] URIEL (J.) et AVRAMEAS (S.). *C. R. Acad. Sci.*, 1961, **252**, 1524.
-

ADIASPIROMYCOSE (HAPLOMYCOSE) CHEZ LES MAMMIFÈRES SAUVAGES EN FRANCE (*)

par W. L. JELLISON (**), E. DROUHET, G. SEGRETAINE (***),
M^{lle} M. L'HÉRITIER (****) et F. PETTER (*****).

En 1942, Emmons et Ashburn [4] isolent des poumons de trois espèces de petits rongeurs de l'Arizona (*Perognathus baileyi*, *Dipodomys merriami* et *Citellus harrisi*), un champignon nouveau qu'ils nomment *Haplosporangium parvum* ; dans sa phase parasitaire ce champignon se présente sous forme de petites sphérules d'environ 14 μ de diamètre et dans sa phase saprophytique sous forme de mycélium portant des spores. En 1944, Jellison [6] observe un champignon semblable mais de dimensions beaucoup plus grandes, d'un diamètre atteignant 300 μ , chez un lagomorphe *Ochotona princeps* dans le Montana (Etats-Unis) ; cette observation est rapportée en 1947 à peu près en même temps que celle de Dowding [3], concernant un parasite semblable chez des rongeurs canadiens. Jellison [6] retrouve le parasite chez divers mammifères des Etats-Unis et chez un rongeur coréen (*Apodemus* sp.) [5].

En Angleterre, Mc Diarmid et Austwick [10] le signalent chez la taupe d'Europe (*Talpa europaea*) en 1954, Tevis [41] chez divers rongeurs (*Apodemus flavicollis*, *A. sylvaticus* et *Clethrionomys glareolus*) en 1956. En Europe continentale, Jellison le trouve chez *Apodemus flavicollis* en 1956 en Suède [8], ainsi que chez divers rongeurs en Norvège, Finlande et Yougoslavie ; plus récemment, en 1959, Ciferri et Montemartini [2] l'isolent du sol en Italie. Ces derniers auteurs classent *Haplosporangium* dans un nouveau genre *Emmonsia*.

(*) Manuscrit reçu le 1^{er} mars 1961.

(**) U. S. Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service, Rocky Mountain Laboratory, Hamilton, Montana, et Department of Microbiology, Harvard School of Public Health, Boston, Mass. U. S. A.

(***) Institut Pasteur, Service de Mycologie et de Physiologie Végétale, Paris.

(****) Institut National de Recherches Agronomiques, Laboratoire des Petits Vertébrés, Versailles.

(*****). Muséum National d'Histoire Naturelle, Laboratoire des Mammifères, Paris.

Dans une récente publication, Emmons et Jellison [5] acceptent cette classification et attribuent les grosses sphérules à paroi épaisse trouvées *in vivo* à une nouvelle espèce *Emmonsia crescens*, différente de *Emmonsia* (*Haplosporangium*) *parva*. Ces auteurs proposent le nom d'*adiaspores* pour ces sphérules communes aux deux espèces, et le nom d'*adiaspiromycose* pour la mycose pulmonaire provoquée par ces parasites qui ne présentent ni multiplication ni dissémination en dehors de leur lieu d'implantation.

A notre connaissance, ces champignons n'ont jamais été décrits en France. Au mois de mai et juin 1959, une recherche pour dépister ce parasite est effectuée sur un certain nombre de petits mammifères. Les premiers animaux furent examinés le 26 mai 1959 au Laboratoire des Mammifères du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris ; les spécimens étaient conservés dans l'alcool et le formol depuis plusieurs années. Sur 28 petits mammifères examinés, deux taupes (*Talpa europaea*) sur 5 spécimens de cette espèce se sont montrées infectées.

Pendant le mois de juin, l'un de nous (M. H.) piège des petits mammifères au voisinage de la localité de Saint-Michel-en-l'Herm en Vendée, et prélève les poumons de ces animaux ; il s'agit de 28 campagnols *Microtus arvalis*, 5 musaraignes *Sorex araneus*, 17 crocidures *Crocidura russula*. Quatre des 28 campagnols et deux des 17 crocidures présentent dans les poumons des sphérules (adiaspores) d'*Emmonsia*. Aucun parasite n'est trouvé chez *S. araneus*. Pendant le mois de mai, des petits mammifères sont piégés pour M. F. Petter à Brunoy (Seine-et-Oise) ; un seul animal sur les 11 examinés, un campagnol roussâtre *Clethrionomys glareolus*, est trouvé infecté.

Au mois de décembre 1959, un certain nombre de petits mammifères sont examinés aux Etats-Unis, au Muséum National de Washington (D. C.). La plupart des spécimens proviennent de l'Amérique du Sud, mais l'un d'eux, un rongeur, *Clethrionomys glareolus vasconiae*, provenait d'Aix-les-Thermes (Ariège) ; ce spécimen, piégé en 1908, est trouvé infecté.

Les données concernant les dix animaux infectés en France sont résumées dans le tableau I. Il s'agit de :

1° Deux taupes d'Europe (*Talpa europaea*) n° 413-2-A et B, piégées à Argenton-sur-Creuse (Indre), aux environs de 1900. Les poumons d'un animal contiennent seulement deux adiaspores mesurant 266 μ (pl., fig. 3) et 348 μ de diamètre. La paroi cellulaire d'une de ces spores est particulièrement épaisse et mesure 74 μ d'épaisseur. La deuxième taupe a de nombreuses spores dans les poumons. Le diamètre moyen de 6 spores est de 346 μ de diamètre, l'épaisseur de la paroi cellulaire de 72 μ . Les taupes

ont été autopsiées au mois de mai 1959 et les poumons, conservés dans l'alcool, ont été traités par une solution de NaOH pour l'étude microscopique.

2° Quatre campagnols des champs (*Microtus arvalis*) n° 442, piégés à Saint-Michel-en-l'Herm (Vendée) au mois de juin 1959. Un animal est infecté par 17 spores sinon plus, un autre par 2 spores de 170 μ et 237 μ de diamètre, un autre par 1 spore de

TABLEAU I. — Animaux examinés en France entre 1959 et 1960 pour la recherche d'*Emmonsia crescens*.

| ESPÈCES | MUSÉUM (m) | | ANIMAUX VIVANTS (v) | | | TOTAL | |
|--|---------------|----------|---------------------------|--------|----------|----------|-----------|
| | | | Examinés | | Infectés | | |
| | Examinés | Infectés | St-Michel | Brunoy | | Examinés | Infectés |
| <i>Microtus arvalis</i> | 5 | | 28 | | 4 | 33 | 4 v |
| <i>Crocidura</i> sp. | 3 | | 17 | | 2 | 20 | 2 v |
| <i>Clethrionomys glareolus</i> | 10 * | 1 | | 3 | 1 | 13 | 1 m + 1 v |
| <i>Talpa europaea</i> | 5 | 2 | | | | 5 | 2 m |
| <i>Apodemus sylvaticus</i> | | | | 5 | | 5 | |
| <i>Sorex araneus</i> | | | 5 | | | 5 | |
| <i>Arvicola sapidus</i> | 4 | | | | | 4 | |
| <i>Mus</i> sp. | 1 | | | | | 1 | |
| <i>Rattus norvegicus</i> | | | | 1 | | 1 | |
| <i>Mustela</i> sp. | 1 | | | | | 1 | |
| Total | 29 | 3 | 50 | 9 | 7 | 88 | 10 |

* Dont un spécimen du Muséum National des Etats-Unis.

* Dont un spécimen du Muséum National des Etats-Unis.

177 μ de diamètre et le dernier par 1 spore de 96 μ de diamètre. D'après les dimensions de leurs poumons, la plupart des animaux récoltés ne semblent pas adultes. Les spores n'ont probablement pas atteint leur dimension maximum.

3° Deux insectivores n° 444, appartenant à l'espèce *Crocidura russula*, piégés à Saint-Michel-en-l'Herm (Vendée), en juin 1959. L'un héberge 10 spores dont une mesure 170 μ de diamètre, l'autre 2 spores qui mesurent 444 μ et 473 μ de diamètre.

4° Un campagnol (*Clethrionomys glareolus*) n° 45, piégé à Brunoy (Seine-et-Oise) le 29 mai 1959. Trois spores sont visibles

dans le poumon, dont une mesure $340\ \mu$ de diamètre, avec une paroi cellulaire de $59\ \mu$ d'épaisseur.

5° Un campagnol roussâtre (*Clethrionomys glareolus vasconiae*) RML n° 35379, piégé à Ax-les-Thermes (Ariège), en mai 1908. Les poumons contiennent une sphérule de $370\ \mu$ de diamètre avec une paroi cellulaire d'une épaisseur de $96\ \mu$.

Du fait que tout ce matériel a été conservé dans l'alcool, la culture de l'organisme pathogène n'a pas été possible.

L'agent de ces cas de mycoses pulmonaires observés chez des mammifères en France peut être considéré comme appartenant à la nouvelle espèce *E. crescens* Emmons et Jellison, jusqu'à la preuve définitive d'une culture isolée et étudiée du point de vue mycologique. La dimension des sphérules et l'épaisseur de leur paroi chez les animaux parasités en France constituent un argument en faveur d'*E. crescens*.

DISCUSSION.

Plusieurs revues générales de la littérature sur *Emmonsia* ont été récemment publiées par Ainsworth et Austwick en 1959 [1], par Ciferri et Montemartini [2] et par Emmons et Jellison [5]. Il s'agit de champignons pathogènes très particuliers, qui croissent dans l'organisme hôte mais ne s'y multiplient pas. Les conidies de la phase végétative mycélienne de ce champignon qui se trouve dans le sol sont inhalées par l'hôte. Après inhalation, ces spores qui mesurent initialement $3\text{--}5\ \mu$ de diamètre, augmentent de volume dans le tissu pulmonaire sans aucun phénomène de division, de bourgeonnement, de sporulation ou de filamentation. Chez l'espèce *E. crescens*, ces sphérules (adiaspores) peuvent atteindre 300 à $400\ \mu$ de diamètre après quelques mois de croissance, et leur paroi peut atteindre $70\ \mu$ d'épaisseur. La paroi cellulaire des parasites observés en France est plus épaisse ($96\ \mu$) que celle des sphérules trouvées dans les autres régions géographiques ($70\ \mu$).

Si on retire ces sphérules de l'organisme animal et si on les cultive à $20\text{--}24^\circ\text{C}$ sur un milieu gélosé, on voit apparaître un abondant mycélium blanc de la phase végétative. La germination se fait par des tubes germinatifs multiples qui traversent la paroi de la sphérule. Cette germination *multiple* est en relation avec la présence de noyaux multiples dans la sphérule d'*E. crescens*; au contraire, la sphérule uninucléée d'*E. parva* donne un filament unique lors de la germination. Emmons [5] a montré qu'*E. crescens* est moins thermophile qu'*E. parva* dont la phase parasitaire *in vitro* n'est obtenue qu'à 40° ; les adiaspores d'*E. crescens* peuvent être obtenues *in vitro* sur la gélose

au sang à 37°. La thermophilie d'*E. parva* peut expliquer pourquoi ce champignon a été trouvé seulement dans les régions à climat chaud du sud-ouest des Etats-Unis et peut-être en Afrique, tandis qu'*E. crescens* vient d'être signalé dans de très nombreuses régions à climat tempéré [3, 7, 8, 9, 10, 11]. En France, la répartition d'*E. crescens* paraît être assez uniforme du fait qu'on a trouvé des animaux parasités dans l'Ile-de-France (Seine-et-Oise), dans le sud (Ariège) et dans le centre-ouest (Vendée).

Les animaux sauvages trouvés porteurs de sphérules pulmonaires d'*Emmonsia* dans les diverses régions géographiques sont apparemment sains et ne paraissent pas souffrir de ce parasitisme.

Une infection mortelle expérimentale peut être obtenue après quelques semaines ou plusieurs mois avec un inoculum massif, mais la mort se produit mécaniquement par suffocation, quand les poumons sont obstrués par les sphérules. Mc Diarmid et Austwick [10] trouvent que ce champignon peut être responsable de la mort de taupes en Angleterre, toutefois, les autres auteurs ne lui attribuent pas une grande pathogénicité. Aucun cas d'adiaspiromycose n'a été encore observé chez l'homme.

RÉSUMÉ.

Des petits mammifères piégés dans diverses régions de France (Ile-de-France, Ariège, Vendée) ainsi que des spécimens d'animaux conservés depuis 60 ans au Muséum d'Histoire Naturelle, ont été trouvés porteurs de sphérules pulmonaires d'un champignon appartenant au genre *Emmonsia* (*Haplosporangium*). Les sphérules fongiques dépassant 470 μ de diamètre et dont la paroi cellulaire atteint 96 μ d'épaisseur sont considérées comme appartenant à la nouvelle espèce de champignon *Emmonsia crescens*, observée également dans diverses régions tempérées d'Amérique et d'Europe. Ce champignon est pour la première fois décrit en France chez deux taupes d'Europe (*Talpa europaea*), quatre campagnols de l'espèce *Microtus arvalis*, deux insectivores de l'espèce *Crocidura russula* et un rongeur de l'espèce *Clethrionomys glareolus*.

SUMMARY

ADIASPIROMYCOSIS (HAPLOMYCOSIS) IN WILD MAMMALS IN FRANCE.

Small mammals captured in different parts of France (Ile-de-France, Ariège, Vendée) and certain specimens of animals preserved for 60 years in the Muséum d'Histoire Naturelle, are carriers of the pulmonary spherules of a fungus belonging to the genus *Emmonsia* (*Haplosporangium*). The diameter of these

spherules is up to 470 μ and the cell wall reaches 96 μ . The yare considered as belonging to the new species *Emmonsia crescens*, also found in various temperate regions of America and Europe. This fungus is described for the first time in France. It was found in two European moles (*Talpa europea*), four field mice (*Microtus arvalis*), two insectivores (*Crocidura russula*) and one rodent (*Clethrionomys glareolus*).

★
★

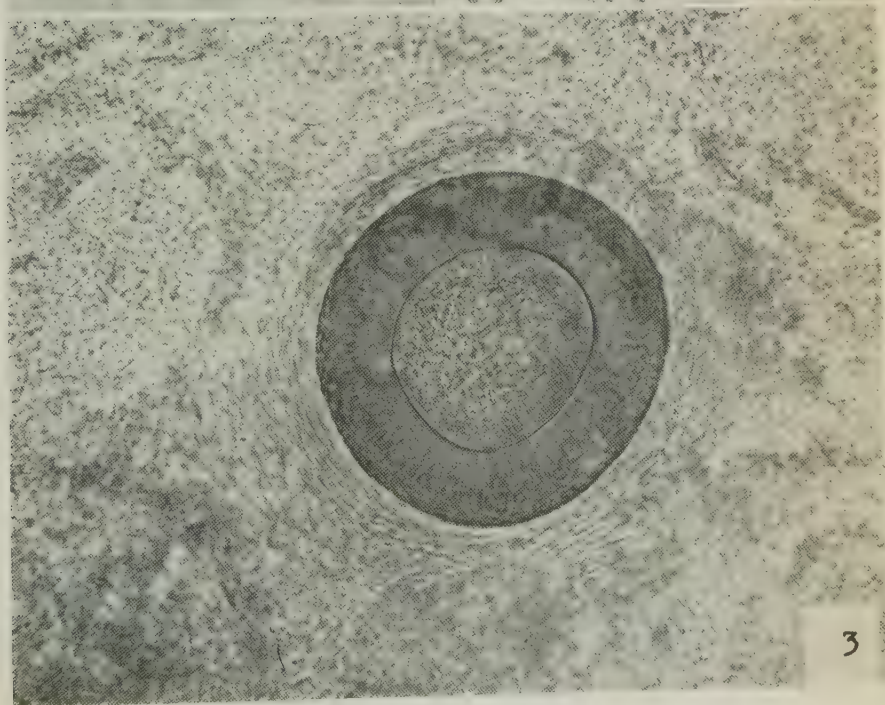
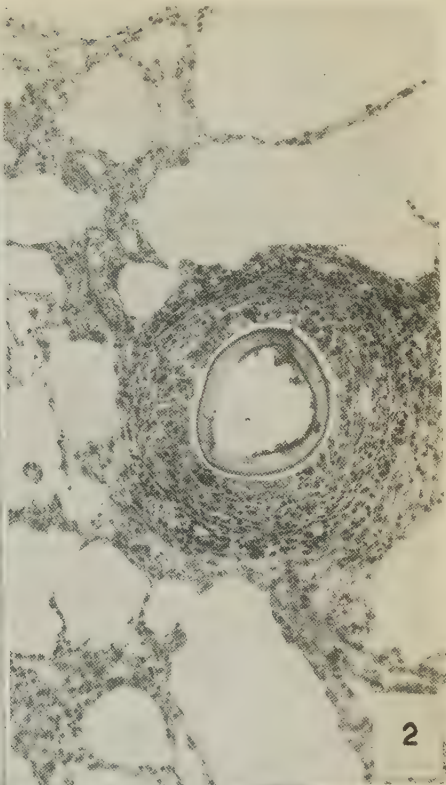
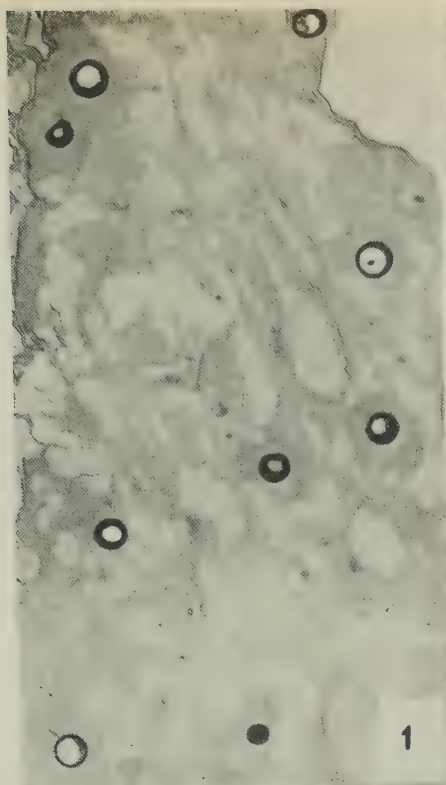
Nous remercions vivement M. J. Giban, Directeur du Laboratoire des petits vertébrés à l'Institut National de Recherches Agronomiques, Versailles, pour l'aide qu'il nous a apportée au cours de ces recherches.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] AINSWORTH (G. C.) and AUSTWICK (P. K. C.). *Fungal diseases of animals*, 1959, 1-148. Commonwealth Agricultural Bureau, Farnham Royal, Bucks, Angleterre.
- [2] CIFERRI (R.) et MONTEMARTINI (A.). *Mycopathol. Mycol. appl.*, 1959, **10**, 303-316.
- [3] DOWDING (E. J.). *Mycologia*, 1947, **39**, 372-373.
- [4] EMMONS (C. W.) and ASHBURN (L. L.). *Publ. Hlth Rep. U. S.*, 1942, **57**, 1715-1727.
- [5] EMMONS (C. W.) and JELLISON (W. L.). *Ann. New York Acad. Sci.*, 1960, **89**, 91-101.
- [6] JELLISON (W. L.). *Proc. Helminthol. Soc. Washington*, 1947, **14**, 75-77.
- [7] JELLISON (W. L.). *Publ. Hlth. Rep.*, 1950, **65**, 1057-1063.
- [8] JELLISON (W. L.). *Publ. Hlth Rep.*, 1954, **69**, 996-997.
- [9] JELLISON (W. L.). *Nord. Vet. Med.*, 1956, **8**, 504-506.
- [10] Mc DIARMID (A.) and AUSTWICK (P. K. C.). *Nature*, 1954, **174**, 843.
- [11] TEVIS (L. Jr.). *Nature*, 1956, **177**, 437.

LEGENDE DE LA PLANCHE

- FIG. 1. — Sphérules (adidaspores) d'*Emmonsia crescens* dans le poumon d'un campagnol, *Microtus arvalis*, capturé en 1959 (n° 442-1). Coloration acide périodique-Schiff. $\times 19$.
- FIG. 2. — Détail de la figure précédente : sphérule entourée d'une réaction tissulaire. Coloration hémalum. $\times 135$.
- FIG. 3. — Sphérule d'*Emmonsia crescens* dans le poumon d'une taupe (spécimen du Muséum datant de 1900) n° 413-2-A. A remarquer la dimension considérable de l'adidaspore et l'épaisseur de la paroi. $\times 170$.



**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'INOCULATION
PAR VOIE OCULAIRE DE PASTEURELLA
PSEUDOTUBERCULOSIS [bacille de Malassez et Vignal](*)**

par Henri H. MOLLARET (**).

(Institut Pasteur)

L'étude du pouvoir pathogène de *Pasteurella pseudotuberculosis*, comme certaines observations de conjonctivite pseudotuberculeuse chez l'homme, nous ont amené à utiliser la voie oculaire pour l'inoculation de ce germe.

Si la plupart des observations humaines de conjonctivite pseudotuberculeuse ne peuvent être retenues en raison des conditions d'isolement des souches (par passage chez le cobaye et non par ensemencement direct), l'on peut tenir comme authentiques syndromes de Parinaud dus à *Pasteurella pseudotuberculosis* chez l'homme l'observation de Grancini [13] et le cas de contamination de laboratoire relaté par Knapp [14].

L'inoculation de *P. pseudotuberculosis* par voie conjonctivale a été effectuée chez le cobaye par Galli Valerio [9], Gifford et Lazar [10], Ravaglia [18], P. Boquet [2], Knapp, Hager et Masshoff [15]; l'inoculation dans la chambre antérieure a été réalisée chez le lapin par Charrin et Roger [5, 6], Deyl [8], Apostopoulos [4], Roger [19], Knapp, Hager et Masshoff, et chez le cobaye par Knapp et coll. La voie conjonctivale a été utilisée chez le chat par Communal [7].

Les expériences d'auteurs tels que Leroy [16] ou Cavara [3, 4] ne peuvent être retenues en raison de la description insuffisante des germes utilisés ou de certains caractères qui ne permettent pas de les tenir pour d'authentiques *P. pseudotuberculosis*.

Contrastant avec l'identité des résultats obtenus par tous les auteurs lors de l'inoculation de *P. pseudotuberculosis* par les

(*) Société Française de Microbiologie, séance du 2 mars 1961.

(**) Nous tenons à remercier le Dr J. Fortier de sa précieuse collaboration, tant pour l'inoculation des animaux que pour leur surveillance ophtalmologique et l'interprétation des lésions.

voies intraveineuse, intramusculaire, sous-cutanée, intrapéritonéale et digestive, la diversité des résultats obtenus par voie oculaire ne manque pas d'étonner : ainsi Galli Valerio, P. Boquet et Knapp ont observé la mort des animaux par généralisation de l'infection après instillation conjonctivale de *P. pseudotuberculosis*, alors que Deyl ou Ravaglia n'ont obtenu qu'une maladie localisée avec survie.

Notre propre expérimentation a porté essentiellement sur le cobaye, accessoirement le lapin et le chat.

I. — EXPÉRIENCES SUR LE COBAYE.

Nous avons utilisé quatre modes d'inoculation :

- 1° Dépôt de culture dans le cul-de-sac conjonctival,
- 2° Scarification cornéenne,
- 3° Inoculation dans la chambre antérieure,
- 4° Inoculation sous-conjonctivale.

1° INOCULATION DANS LE CUL-DE-SAC CONJONCTIVAL. — Durant les années 1959 et 1960 nous avons inoculé 48 cobayes en leur déposant sur la conjonctive de l'œil droit une anse abondamment chargée de culture de 24 heures sur gélose de *P. pseudotuberculosis*. Quelles qu'aient été les souches utilisées (à l'exception des souches avirulentes du type IV) les résultats ont été constamment les suivants :

Après quarante-huit heures apparaît une sécrétion discrète à l'angle interne de l'œil, avec rétrécissement de la fente palpébrale.

Au quatrième jour, l'œil est semi-fermé ; une sécrétion blanchâtre abondante agglutine les poils du pourtour de l'œil. La conjonctive, difficile à voir, est rouge et infiltrée.

Les lésions sont à leur maximum vers le sixième-septième jour : les paupières sont accolées, œdématisées, difficiles à écarter. Après évacuation de l'exsudat, la cornée apparaît légèrement opaque ; des granulations sont visibles sur la conjonctive palpébrale.

A partir du douzième-treizième jour, la sécrétion diminue et l'œil peut s'entrouvrir spontanément. La cornée est dépolie, la conjonctive rouge et œdématisée. Des végétations ou des granulations blanchâtres peuvent se voir à la face profonde des paupières.

Vers le vingt-cinquième-trentième jour la guérison est totale.

Durant toute l'évolution la palpation des régions prétragienne, sous-maxillaire et cervicale ne permet pas de déceler d'adénopathies.

Les mois suivant la guérison, les animaux sont restés en parfait état : aucun n'a présenté de généralisation de l'infection. Nous reviendrons sur ce point pour lequel nos résultats sont en contradiction avec ceux de différents auteurs (Galli Valerio, Boquet).

A l'exception des souches du type IV, dont l'avirulence est bien connue depuis les travaux de Thal [24], quels qu'aient été les types sérologiques utilisés (I, II, III et V) ou les origines animales de ces souches, nous n'avons observé aucune différence dans les résultats locaux et généraux (deux souches, cependant, nous ont donné des lésions constamment plus précoces et plus intenses : toutes deux avaient été isolées chez le chat).

Si l'inoculation est faite non plus avec une dose massive de culture sur gélose, mais avec une dilution de culture de 24 heures en eau peptonée, les délais d'incubation, plus que les manifestations cliniques, varient selon la quantité de culture instillée : I goutte de culture pure ou diluée au 1/10 donne les mêmes signes dans les mêmes délais qu'une ose de culture sur gélose. I goutte de culture diluée au 1/100 n'entraîne les premiers symptômes qu'à partir du sixième jour ; avec des dilutions au 1/1 000 et au-delà, les résultats sont inconstants, la conjonctivite étant parfois apparue après une semaine ou ayant, le plus souvent, fait défaut.

2° SCARIFICATION CORNÉENNE. — Celle-ci a été pratiquée sur 6 cobayes à l'aide du scarificateur de Desmarres, préalablement trempé dans une culture de 24 heures. Quels qu'aient été le nombre et l'étendue des scarifications (de 1 à 3 sur 2 à 4 mm de long) l'évolution fut superposable.

Après quarante-huit heures apparaît un très léger œdème des bords de la scarification.

Au troisième-quatrième jour l'œdème augmente cependant que s'installe une infiltration de la cornée dans le secteur avoisinant la scarification.

Au septième-huitième jour, l'œdème a envahi toute la conjonctive bulbaire, la trace de la scarification est perdue dans une infiltration cornéenne étendue. Il existe un leucome cornéen, parfois un aspect bulleux de la partie inférieure de la cornée.

Au dixième jour, les lésions sont à leur maximum, la cornée est totalement opacifiée et épaissie. De minuscules nodules blanchâtres apparaissent parfois et semblent annoncer l'abcédation ; celle-ci cependant ne se produit pas.

Ces signes régressent à partir du quinzième jour et toute inflammation a totalement disparu au vingtième. S'il persiste parfois une opacité interstitielle limitée, habituellement la guérison est totale ; seule peut encore se voir pendant quelques semaines une cicatrice linéaire blanchâtre à l'emplacement de la scarification.

Durant toute l'évolution le clignement de l'œil est rare, mais la cornée garde sa sensibilité. Il n'y a pas d'adénopathie appréciable.

Sacrifiés après deux mois, les animaux ne présentèrent aucune lésion macroscopique ; lesensemencements furent négatifs.

3° INOCULATION DANS LA CHAMBRE ANTÉRIEURE. — Elle fut pratiquée chez une première série de dix animaux à l'aide de l'aiguille de Paufigue chargée de culture en eau peptonée. Dans un cas la ponction fut suivie d'une hernie de l'iris qui n'imprima pas de caractère particulier à l'évolution ultérieure. Dans ce cas, comme chez les neuf autres animaux, l'inoculation entraîna au deuxième jour une injection de tout le globe oculaire avec un aspect laiteux du point d'inoculation, au troisième jour l'apparition de précipités descemetiques, au cinquième jour une uvéite intense. Un animal présenta au dixième jour une cataracte polaire antérieure avec humeur aqueuse claire qui persista sous la forme d'une discrète opacité du cristallin après guérison.

Dans tous les cas la guérison était complète au vingtième jour ; nous n'avons constaté ici encore ni adénopathie, ni généralisation. Sacrifiés un mois après la guérison, les animaux ne présentaient aucune manifestation viscérale.

La discrétion des signes observés, contrastant avec l'intensité des manifestations relatées par différents auteurs, nous a fait incriminer l'insuffisance de l'inoculum et, dans une seconde série de six cobayes, nous avons injecté 1/100 de centimètre cube à l'aide d'une aiguille à intradermo-réaction après soustraction d'environ 1/20 de centimètre cube d'humeur aqueuse. Dans ces conditions, les lésions furent d'une intensité extrême : dès le lendemain, l'œil bombait fortement, agrandissant la fente palpébrale ; la sclérotique était hyperhémiee, l'humeur aqueuse déjà trouble. Quarante-huit heures plus tard, la cornée de quatre cobayes était opalescente et quadruplée d'épaisseur ; une épisclérite existait chez deux animaux. Deux autres présentaient un Tyndall léger de l'humeur aqueuse. Chez trois autres, l'humeur aqueuse était franchement trouble, laissant deviner des formations pseudo-membraneuses. Trois animaux présentaient une iritis exsudative avec synéchies circulaires blanches. Des nodules existaient à un degré variable sur l'iris, réalisant dans un cas, par leur confluence, un aspect mûriforme. A la face postérieure de la cornée des amas plus ou moins importants étaient visibles sur la membrane de Descemet. Ces lésions étaient analogues à celles qu'avaient observées Charrin et Roger, Deyl, Apostopoulos, Knapp et Hager.

Les signes inflammatoires atteignirent leur maximum d'intensité vers le sixième-septième jour, date à partir de laquelle l'évolution de la panophtalmie se diversifia : chez deux animaux une

perforation centrale aboutit à une escarre lentement éliminée. Chez les quatre autres, dont le segment antérieur resta longtemps volumineux et la cornée opaque, laissant à peine apercevoir le contenu purulent de la chambre antérieure, l'évolution finale aboutit à un moignon rétracté dans l'orbite.

Ici non plus, l'infection ne se généralisa pas pendant les quatre mois durant lesquels les animaux furent conservés.

4° INOCULATION SOUS-CONJONCTIVALE. — Elle fut pratiquée à l'aide d'une aiguille à intradermo-réaction au niveau de la conjonctive bulbaire en injectant 1/20 de centimètre cube de culture et nous donna les résultats suivants :

Au troisième-quatrième jour apparaît une sécrétion discrète précédant l'installation d'une conjonctivite folliculaire typique avec infiltration cornéenne diffuse pouvant aboutir à une opacification presque complète.

Au sixième-septième jour, la sécrétion augmente ; il apparaît une néo-vascularisation superficielle de la cornée, bien visible à la lampe à fente, dans un secteur plus ou moins étendu au voisinage du point d'inoculation. Les lésions sont au maximum à ce stade auquel peuvent apparaître des bulles ou des ulcérations cornéennes.

Au dixième-douzième jour, la sécrétion se tarit et le calibre des vaisseaux s'amenuise, amorçant la résorption totale de la néo-vascularisation. La guérison totale est complète vers le quinzième jour, mais l'évolution ultérieure se fait ici constamment vers l'extension par voie lymphatique, aboutissant à la généralisation de l'infection. Sur 10 cobayes, un est mort au douzième jour, neuf autres à des dates variables entre le quinzième et le trente-cinquième jour : tous présentaient des granulations caractéristiques sur le foie, la rate et presque toujours les deux poumons. L'atteinte des ganglions sous-angulo-maxillaires, jugulo-carotidiens et trachéo-bronchiques est constante, l'examen anatomopathologique met en évidence des stades évolutifs différents selon le siège des ganglions : les plus hauts situés sur la chaîne cervicale étant abcédés, alors que les plus éloignés ne présentent encore qu'une adénite congestive.

Ainsi, à l'exception de la voie sous-conjonctivale, nos inoculations par voie oculaire chez le cobaye n'ont entraîné que des manifestations locales, de modalités variables selon le territoire oculaire inoculé, mais n'ont été suivies de généralisation mortelle que dans 3 cas seulement sur 72 animaux inoculés. Cette absence de généralisation contraste avec les résultats de la plupart des auteurs : si, après inoculation dans le cul-de-sac conjonctival chez le cobaye, Deyl comme Ravaglia (ou, chez le lapin, Ravaglia)

n'ont pas plus que nous observé de généralisation mortelle par cette même voie, au contraire, la généralisation fut obtenue en huit jours par Galli Valerio, d'une façon constante par P. Boquet et chez un certain nombre d'animaux par Knapp, Hager et Masshoff.

L'inoculation intracamérulaire antérieure chez le lapin entraîne la mort selon tous les expérimentateurs (Apostopoulos, Charrin et Roger, Deyl, Knapp et coll.). Seul, H. Roger, sur 4 inoculations, observa un cas de survie.

La survie constante de nos cobayes (en particulier de ceux inoculés dans le cul-de-sac conjonctival qui furent conservés en général six mois au moins avant d'être sacrifiés) nous a amené à rechercher l'existence d'une immunité secondaire à l'inoculation par voie oculaire. Nous avons donc réinoculé selon divers modes des cobayes ayant reçu initialement *P. pseudotuberculosis* par une des quatre voies oculaires primitivement utilisées, ou par voie générale.

RÉINOCULATION PAR VOIE OCULAIRE.

Neuf cobayes, après une inoculation initiale dans le cul-de-sac conjonctival droit avec une souche du type I, furent réinoculés dans les mêmes conditions un mois plus tard, soit avec la même souche, soit avec des souches des types II, III et V.

Onze autres cobayes initialement inoculés au niveau de l'œil droit (5 dans le cul-de-sac conjonctival, 3 dans la chambre antérieure et 3 par scarification cornéenne) reçurent dans les culs-de-sac conjonctivaux droit et gauche une anse de culture sur gélose de la même souche, à des dates variant entre le quinzième et le quatre-vingt-dixième jour après la première inoculation.

Toutes ces réinoculations sont restées sans effet et n'ont entraîné aucune manifestation locale ou générale.

L'inoculation par voie conjonctivale et cornéenne entraîne donc l'apparition d'une immunité vis-à-vis de la réinoculation par voie conjonctivale aussi bien du côté inoculé que de l'autre côté. Si, après inoculation intracamérulaire, la réinoculation du même côté n'est pas réalisable en raison des lésions, l'immunité est complète du côté opposé.

La protection s'exerce aussi bien vis-à-vis de la souche utilisée pour la première inoculation que vis-à-vis de souches d'autres types sérologiques.

Nous avons cherché à préciser la date à laquelle, après instillation dans le cul-de-sac conjonctival, apparaît l'immunité conjonctivale du côté opposé : après avoir inoculé 12 cobayes dans le cul-de-sac conjonctival droit, nous avons réinoculé avec la même souche, du côté opposé, chaque animal respectivement aux

deuxième, troisième, quatrième, cinquième, etc., jours suivant la première inoculation (nous avons utilisé la souche 128-I isolée chez un chat et qui nous a paru douée d'un plus grand pouvoir pathogène pour la conjonctive que les autres, la conjonctivite apparaissant dans les vingt-quatre heures).

Les cobayes réinoculés aux deuxième, troisième, quatrième jours après la première inoculation ont présenté du côté gauche les mêmes lésions et dans les mêmes délais que du côté droit. Chez les cobayes réinoculés après le quatrième jour, le délai d'apparition des premiers signes est passé de un à trois jours chez la moitié des animaux. Une nouvelle série d'expériences identiques nous a montré que l'immunité du côté opposé était complète trois semaines après la première inoculation.

Cette immunité ne semble pas pouvoir être transmise de la mère aux enfants : deux cobayes nouveau-nés, dont la mère avait été inoculée dans le cul-de-sac conjonctival trente jours avant la mise-bas, furent inoculés à l'âge de 2 jours par la même voie, avec la même souche, et se montrèrent réceptifs (il faut noter que c'est au cours de ces essais de réinoculation chez des femelles gravides que nous avons observé un cas de généralisation mortelle).

RÉINOCULATION PAR VOIE INTRAPÉRITONÉALE.

Nous avons réinoculé 12 cobayes mâles ayant initialement été inoculés avec une souche du type I dans les conditions suivantes :

Cobayes n^{os} 1, 2, 3 inoculés dans le cul-de-sac conjonctival vingt-cinq jours avant.

Cobaye n^o 4 inoculé dans le cul-de-sac conjonctival quarante-cinq jours avant.

Cobaye n^o 5 inoculé dans le cul-de-sac conjonctival cinquante jours avant.

Cobayes n^{os} 6, 7, 8 inoculés par voie intracamérulaire antérieure vingt-cinq jours avant.

Cobayes n^{os} 9, 10, 11 inoculés par scarification cornéenne vingt-cinq jours avant.

Cobaye n^o 12 inoculé par scarification cornéenne soixante jours avant.

Tous reçurent par voie intrapéritonéale 0,5 cm³ d'une souche du type III tuant les témoins en cinq jours.

A l'exception du cobaye n^o 1 qui, huit jours après l'injection intrapéritonéale, mourut d'une généralisation consécutive à la première inoculation (les organes ayant tous donné une culture du type I) tous les autres animaux résistèrent à la réinoculation et étaient encore en vie soixante jours après (un animal présenta au troisième jour un signe de Strauss transitoire et survécut également).

Sacrifiés après deux mois, les animaux ne présentaient pas de lésions viscérales et tous les ensemencements restèrent stériles. L'immunité consécutive à l'instillation conjonctivale ou à la scarification cornéenne est donc supérieure à celle que confère la vaccination par voie sous-cutanée à l'aide de germes tués qui, si elle donne en général une protection contre l'inoculation par voie sous-cutanée, ne protège pas contre l'inoculation par voie intrapéritonéale (van Saceghem [21]).

RÉINOCULATION PAR VOIE SOUS-CUTANÉE.

Deux cobayes initialement inoculés par scarification cornéenne avec une souche du type I reçurent respectivement, l'un au cinquantième, l'autre au soixante-troisième jour suivant, 0,5 cm³ d'une culture du type II. Le premier présenta à partir du cinquantième jour un placard d'allure torpide qui finit par s'ulcérer et entraîna une suppuration durant un mois pendant laquelle la souche du type II fut régulièrement retrouvée. Le deuxième présenta au point d'inoculation un petit nodule persistant à partir duquel les ponctions ramenèrent pendant quinze jours la souche inoculée à ce point.

Dans les deux cas il y eut finalement guérison.

Deux autres cobayes reçurent, l'un cinquante-huit jours, l'autre soixante-quatorze jours après l'inoculation d'une culture de type I dans le cul-de-sac conjonctival, 0,5 cm³ sous-cutané d'une culture du type II. Le premier animal, sacrifié deux mois après, ne présentait aucune lésion. Le second mourut au septième jour en présentant des lésions viscérales dans lesquelles fut constamment retrouvée la souche du type II.

Si l'instillation conjonctivale ou la scarification cornéenne entraînent une protection totale contre la réinoculation par voie intrapéritonéale, elles protègent donc très mal contre la réinoculation par voie sous-cutanée.

RÉINOCULATIONS CROISÉES AVEC D'AUTRES ESPÈCES MICROBIENNES.

Nous n'avons pas constaté que les cobayes ayant reçu *P. pseudotuberculosis* en instillation oculaire soient protégés contre la réinoculation par la même voie avec *Listeria monocytogenes* ou différentes *Shigella* (*Sh. dysenteriae* 2, *Sh. flexneri* 2, *Sh. boydii* 2, *Sh. sonnei*) dont D. et M. Piéchaud, S. Szturm-Rubinsten et Thibault [17, 22, 23] ont démontré le pouvoir pathogène pour la cornée et la conjonctive du cobaye. De même, après instillation oculaire de *Listeria* ou de *Shigella*, les cobayes restent réceptifs à l'instillation de *P. pseudotuberculosis*.

Protection contre « Pasteurella pestis ».

Cinq cobayes ayant reçu *P. pseudotuberculosis* en instillation oculaire le 12 décembre 1959 ont résisté à l'inoculation de la souche H III 50 de *P. pestis* (une anse dans le cul-de-sac conjonctival pour deux d'entre eux et 0,5 cm³ par voie intrapéritonéale pour les trois autres le 1^{er} avril 1960), les témoins étant morts en huit jours après instillation oculaire et en moins de quarante-huit heures après inoculation intrapéritonéale des mêmes doses de *P. pestis*. Ces faits sont à rapprocher de la protection contre *P. pestis* obtenue chez le cobaye par Rowland [20] après vaccination avec des souches de *P. pseudotuberculosis* tuées par la chaleur et par Girard [41, 42] après instillation oculaire de la souche E. V. de *P. pestis*. Inversement, nous avons vérifié que l'instillation oculaire de cette souche E. V. protégeait le cobaye contre la réinoculation par la même voie avec *P. pseudotuberculosis*.

La scarification cornéenne confère une protection semblable à celle qu'entraîne l'instillation conjonctivale.

A l'encontre de ces deux voies, l'inoculation de *P. pseudotuberculosis* dans la chambre antérieure n'entraîne qu'une ébauche de protection contre *P. pestis* : 4 cobayes inoculés par cette voie avec *P. pseudotuberculosis* et réinoculés cent un jours plus tard avec 0,5 cm³ de *P. pestis* par voie intrapéritonéale sont morts au cinquième jour. Les témoins sont morts en moins de quarante-huit heures et deux cobayes ayant reçu *P. pseudotuberculosis* en instillation oculaire cent six jours auparavant ont survécu à la réinoculation intrapéritonéale de 0,5 cm³ de *P. pestis*.

II. — EXPÉRIENCES SUR LE LAPIN.

L'inoculation de *P. pseudotuberculosis* dans le cul-de-sac conjonctival a donné les mêmes résultats que chez le cobaye : au deuxième jour, rougeur légère de la conjonctive bulbaire et palpébrale ; aux troisième-quatrième jours, hyperhémie conjonctivale avec œdème sans formations folliculaires vraies. Au sixième jour, exsudat pseudo-membraneux ; 1 ou 2 follicules apparaissent sur la nictitante, sur laquelle les lésions sont dans l'ensemble prédominantes. Au dixième jour, phlyctènes et œdème intense. Tous ces signes régressent à partir du quinzième-vingtième jour et la guérison est totale à partir du vingt-cinquième-trentième jour.

La réinoculation par la même voie de l'un ou l'autre côté, est en général suivie d'une légère hypervascularisation avec sécrétion transitoire.

La scarification cornéenne entraîne l'apparition de petits follicules de la région limbique se résorbant en une quinzaine de jours.

Les lapins inoculés par voie conjonctivale ont survécu à la réinoculation intraveineuse de 1/100 de centimètre cube de culture. Les lapins inoculés par scarification cornéenne n'ont pas résisté à l'inoculation intraveineuse de 1/10 de centimètre cube de culture.

III. — EXPÉRIENCES SUR LE CHAT.

Communal [7], après inoculation oculaire, a observé l'apparition de nodules sur la conjonctive et un exsudat louche dans la chambre antérieure.

Chez 7 chats, nous avons introduit une anse de culture dans le cul-de-sac conjonctival : 5 n'ont montré aucun trouble. Le sixième présenta au huitième jour une conjonctivite intense et mourut au dixième jour sans lésions viscérales et sans que la souche puisse être retrouvée ; le septième inoculé le 14 avril 1960 présenta, les 15 et 16 avril, une légère sécrétion conjonctivale. Il se cachectisa à partir du moins de septembre et mourut le 8 décembre sans aucune lésion à l'exception d'une très grosse rate histologiquement normale et sans que la souche puisse être retrouvée ; nous ne savons pas si la mort peut être rattachée à l'inoculation.

RÉSUMÉ.

L'inoculation de *P. pseudotuberculosis* chez le cobaye par instillation conjonctivale ou par scarification cornéenne entraîne une maladie localisée aboutissant spontanément à une guérison complète.

L'inoculation intracaméculaire antérieure entraîne une panophtalmie aboutissant à la perte de l'œil.

Ces trois modes d'inoculation ne nous ont donné qu'exceptionnellement une généralisation de l'infection. Seule l'inoculation sous-conjonctivale, a entraîné la mort.

L'instillation conjonctivale, comme la scarification cornéenne, confèrent une protection efficace contre la réinoculation par voie oculaire ou intrapéritonéale avec *P. pseudotuberculosis* ou *P. pestis*. Par contre, la protection est incomplète contre la réinoculation de *P. pseudotuberculosis* par voie sous-cutanée.

Si l'inoculation intracaméculaire antérieure de *P. pseudotuberculosis* confère une protection efficace contre la réinoculation de ce germe par voie oculaire ou intrapéritonéale, elle ne protège pas contre l'introduction de *P. pestis* par ces mêmes voies.

SUMMARY

CONTRIBUTION TO THE STUDY OF OCULAR INOCULATION OF *Pasteurella pseudotuberculosis* (MALASSEZ' AND VIGNAL'S BACILLUS).

Inoculation of *P. pseudotuberculosis* in guinea pigs by means of conjunctival instillation or corneal scarification, induced a localized disease, followed by complete recovery.

Inoculation into the camera aquosa induces panophthalmia resulting in loss of the eye.

A generalized infection is only exceptionnally obtained by these different routes of inoculation. Only subconjunctival injection induces the death of the animals.

Conjunctival instillation and corneal scarification induce efficient protection against a challenge injection by ocular or intra-peritoneal routes with *P. pseudotuberculosis* or *P. pestis*. This protection is very incomplete against a subcutaneous challenge infection with *P. pseudotuberculosis*.

Inoculation of *P. pseudotuberculosis* into the camera aquosa protects guinea pigs against ocular or peritoneal injection with the same germ, but it does not induce any protection against injection of *P. pestis* by the same routes.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] APOSTOPOULOS. *Arbeiten auf dem Gebiete der pathologischen Anatomie und Bakteriologie aus dem pathologisch-anatomischen Institut zu Tübingen*, 1896, **2**, 198-210.
- [2] BOQUET (P.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1937, **59**, 341-382.
- [3 et 4] CAVARA (V.). *Boll. Oculistica*, 1922, **1**, 46-64 et 123-134.
- [5 et 6] CHARRIN et ROGER (G. H.). *C. R. Acad. Sci.*, 1888, **106**, 867-871 et *C. R. Soc. Biol.*, 1888, **40**, 272-275.
- [7] COMMUNAL (R.). *Thèse vétérinaire*, Paris, 1945.
- [8] DEYL (J.). *Experimentelle Untersuchungen mit Pseudotuberkulose besonders am Auge*. Acad. des Sciences de l'Empereur François Joseph, Prague, 1894.
- [9] GALLI VALERIO (B.). *Centralbl. Bakt.*, 1903, **33**, 321-330.
- [10] GIFFORD (S. R.) and LAZAR (N. K.). *Arch. Ophthalm.* (Chicago), 1930, **4**, 468-475.
- [11] GIRARD (G.). *Ann. Méd.*, 1937, **42**, 478-495.
- [12] GJRARD (G.) et ROBIC (J.). *Bull. Acad. Méd.*, 1934, **111**, 939-945.
- [13] GRANCINI. *Boll. Oculistica*, 1939, **13**, 133-163.
- [14] KNAPP (W.). *Ergebn. Mikrob.*, 1959, **26**, 196-269.
- [15] KNAPP (W.), HAGER (H.) et MASSHOFF (W.). *Cité par KNAPP. Correspondance personnelle*.

- [16] LEROY (C.) in VERNEUIL. *Etudes sur la Tuberculose*. Paris, Masson, 1892, **3**, 1-11.
 - [17] PIÉCHAUD (D.) et SZTURM-RUBINSTEN (S.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1959, **97**, 511-517.
 - [18] RAVAGLIA (F.). *Nuova Veter.*, 1932, **40**, 272-279.
 - [19] ROGER (C. H.). *Les maladies infectieuses*. Paris, Masson, 1902.
 - [20] ROWLAND (S.). *J. Hyg., Plague, Suppl.* **11**, 1912.
 - [21] SACEGHEM (R. van). *C. R. Soc. Biol.*, 1916, **79**, 908-909.
 - [22] SZTURM-RUBINSTEN (S.) et PIÉCHAUD (D.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, **95**, 763-767.
 - [23] SZTURM-RUBINSTEN (S.), PIÉCHAUD (D.) et THIBAUT (P.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1957, **93**, 463-467.
 - [24] THAL (E.). *Nord. Vet. Med.*, 1957, **7**, 151-153.
-

ÉTUDE DE L'INHIBITION NON SPÉCIFIQUE DE LA STREPTOLYSINE O

II. — AFFAIBLISSEMENT ÉLECTIF DU POUVOIR INHIBITEUR
PAR UNE GLOBULINE- α_1 PRÉSENTE DANS LA FRACTION V DE COHN

par Nicole CABAU (*) et Jacques BADIN (**).

(Centre d'Exploration fonctionnelle de la Seine,
24, rue Saint-Victor, Paris)

Le streptocoque hémolytique sécrète une toxine, la streptolysine O, qui est antigénique. *In vivo*, elle provoque la formation d'un anticorps, l'antistreptolysine O, qui inhibe son pouvoir hémolytique.

Le dosage de cet inhibiteur spécifique par la méthode classique de Todd permet théoriquement de révéler l'origine streptococcique d'une infection (Todd [1]). En fait, on observe avec cette méthode des inhibitions souvent très élevées dans des maladies où le streptocoque ne joue manifestement aucun rôle. Il a été établi (Oker-Blom et coll. [8], Packalen [9], Stollerman et coll. [13], Wahl et coll. [16]) que ce phénomène était dû à des inhibiteurs non spécifiques dont la présence a été notée dans les maladies les plus diverses, telles que la tuberculose, l'hépatite virale et certains rhumatismes chroniques inflammatoires. Dans ces affections, aucune signification ne peut être donnée à une telle élévation du taux d'anti-streptolysine. En pratique d'ailleurs toute élévation de ce taux doit nécessairement être interprétée dans un contexte clinique détaillé.

Nous avons étudié l'inhibition non spécifique de l'antistreptolysine O dans le but de trouver un moyen de la différencier de l'inhibition spécifique par anticorps.

Dans un travail préliminaire, la migration électrophorétique des inhibiteurs de la streptolysine fut étudiée. Il fut constaté que dans les affections dont l'origine streptococcique ne faisait pas de doute (scarlatine, néphrite post-angineuse, rhumatisme aigu post-angineux), l'inhibiteur se trouvait toujours dans les γ -globu-

(*) Attachée de recherches au C. N. R. S.

(**) Société Française de Microbiologie, séance du 2 février 1961.

lines, ce qui correspond au fait que cet inhibiteur est un anti-corps vrai.

A l'opposé, il fut observé que dans les affections non streptococciques (tuberculose pulmonaire et rhumatismes chroniques en particulier), l'inhibiteur se situait dans les α et les β -globulines. La fraction γ n'avait ici pratiquement pas de pouvoir antistreptolytique (Wahl et coll. [16]).

Les travaux de Packalen [9] de Nikkila et Oker-Blom [8] et de Stollerman [13] ont établi que ces inhibiteurs non spécifiques sont liés à certains lipides présents dans les globulines α et β .

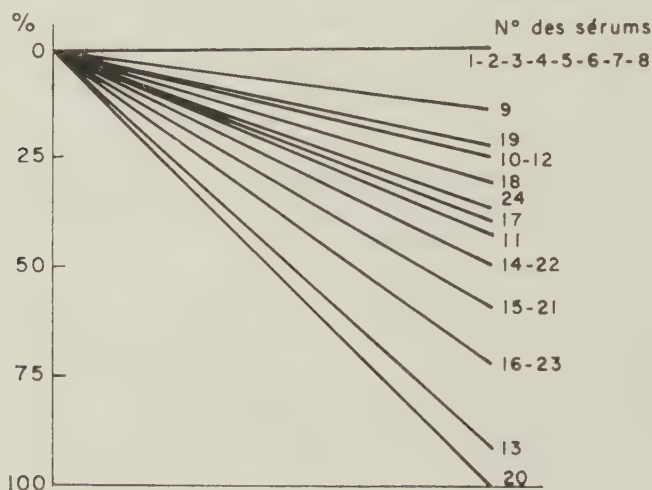


FIG. 1. — Chute relative du taux d'ASL O provoquée par l'addition de fraction FV du plasma humain. Courbes 1 à 10 : Sérums dont l'inhibiteur de la streptolysine a été trouvé dans les γ -globulines. Courbes 11 à 24 : Sérums dont l'inhibiteur se situe dans les β - et α -globulines.

Partant de l'hypothèse que ces lipides pouvaient être des acides gras, nous avons cherché à éliminer leur influence sur la streptolysine en faisant le dosage en présence de fortes doses d'albumine humaine commerciale (fraction FV). Gordon [6] a, en effet, montré que cette protéine a le pouvoir de capter et de fixer fortement les acides gras libres. Nos premiers résultats parurent confirmer cette hypothèse : quand les sérums étudiés étaient ceux de malades atteints d'une affection streptococcique, le dosage de l'ASL, en présence d'albumine FV, donnait des résultats identiques à ceux fournis par la méthode classique. Il n'en était pas du tout de même quand les sérums inhibiteurs provenaient de

tuberculeux, d'hépatiques ou de malades atteints d'une affection non streptococcique. Dans ces cas, l'albumine FV provoquait une diminution, parfois considérable, du taux d'inhibition de la streptolysine (Badin et Cabau [1], Cabau et Badin [2], Cabau [4], Perez et coll. [10]) [fig. 1].

Il fut montré que l'incubation de l'albumine FV avec le sérum à 37° pendant trois heures était favorable et permettait d'obtenir des résultats reproductibles (Cabau [3]).

Il fut prouvé que l'albumine FV agissait sur un facteur de sérum et non pas directement sur la streptolysine (Cabau [3]).

Dans le présent travail, il est montré que la propriété de diminuer l'inhibition non spécifique de la streptolysine n'appartient pas à l'albumine, mais à une ou plusieurs protéines du type α_1 qui accompagnent habituellement l'albumine dans la fraction V du plasma humain obtenue par la méthode de Cohn à l'alcool refroidi.

MATÉRIEL ET MÉTHODES.

1° Sérums sélectionnés, donnant tous une inhibition d'ASL supérieure à 1/240 et secondairement triés d'après le diagnostic clinique.

a) Affections streptococciques (rhumatisme articulaire aigu, scarlatine, néphrite post-angineuse).

b) Affections non streptococciques (tuberculose, hépatite virale).

TABLEAU I. — Exemples caractéristiques de la chute relative du taux d'ASL en présence d'albumine (FV) dans les affections streptococciques et non streptococciques.

| DIAGNOSTIC CLINIQUE | POUVOIR ANTISTREPTOLYTIQUE DU SÉRUM | | |
|--|-------------------------------------|-------------------|-----------------------|
| | DOSAGE NORMAL | EN PRÉSENCE DE FV | CHUTE DE L'INHIBITION |
| Scarlatine | 800 | 800 | 0 % |
| Néphrite | 440 | 440 | 0 % |
| Rhumatisme post angineux | 3 200 | 3 200 | 0 % |
| Rhumatisme articulaire aigu | 400 | 400 | 0 % |
| Hépatite virale | 2 000 | 500 | 75 % |
| Tuberculose | 800 | 400 | 50 % |
| Polyarthrite chronique évolutive | 1 600 | 75 | 95 % |
| Rhumatisme subaigu..... | 480 | 120 | 75 % |

c) Affections d'origine inconnue (rhumatismes chroniques).

A ces sérums furent ajoutés quelques liquides synoviaux privés de leur mucine par acidification et neutralisation.

2° Solution de streptolysine standardisée de l'Institut Pasteur, activée par la cystéine.

3° Hématies de mouton (stabilisées) de l'Institut Pasteur.

4° Fraction FV (albumine humaine commerciale) lyophilisée du Centre National de Transfusion Sanguine.

Le dosage de l'« antistreptolysine » a été fait par la méthode de Todd selon la technique de l'Institut Pasteur.

Parallèlement, on fait le même dosage en présence de FV, chaque dilution de sérum ayant été au préalable incubée trois heures et demie à 37° C avec 6 mg de fraction FV. Après addition du système hémolytique, le volume total de liquide est de 2,5 ml par tube. L'intensité de l'action de la fraction FV sur l'inhibition de l'hémolyse est exprimée par l'importance de la chute relative du taux d'inhibition sous son influence.

Comme le montrent les exemples du tableau I, la chute est nulle si l'inhibition est due à l'anticorps streptococcique et varie entre 50 et 100 p. 100 dans les cas où elle relève de facteurs non spécifiques.

TRAVAIL EXPÉRIMENTAL ET RÉSULTATS.

L'hypothèse d'une fixation éventuelle des « fausses antistreptolysines » de nature lipidique par l'albumine, ajoutée en excès sous forme de fraction FV, orienta nos recherches jusqu'au moment où il fut constaté que, pour un même taux de protéines, le pouvoir de divers lots de fraction V commerciale sur l'inhibition non spécifique de la streptolysine était variable. Certains se révélèrent même inactifs.

Une mercaptalbumine cristallisée, mise à notre disposition par le Dr J. Lewin, et des échantillons d'albumine humaine purifiée et d'albumine bovine cristallisée (Dr J. J. Perez) se montrèrent très irrégulièrement actifs. Ces constatations sont rapportées dans le tableau II.

Nous avons d'abord pensé que la variabilité du pouvoir des diverses préparations d'albumine pouvait s'expliquer par la présence de lipides bloquant en partie les pôles lipophiles de l'albumine. Cette hypothèse fut éliminée quand il fut constaté que la délipidation totale de la fraction FV par la méthode de Goodman [5] ne modifiait pas son pouvoir (tableau III).

Le pouvoir de FV sur les « fausses antistreptolysines » fut alors attribué à l'un des autres constituants du plasma accompagnant l'albumine dans la fraction FV, constituant dont la présence fut révélée par l'électrophorèse en gel d'amidon (Dr Fine). Les diagrammes obtenus avec FV présentent, en effet, à côté de l'albumine, plusieurs bandes correspondant à des globulines α_1 (fig. 2).

A la suite des travaux de Cohn, Schmid et coll. [17] il est établi que ces protéines sont des mucoprotéines. Vu leur faible poids moléculaire et leur richesse en glucides, ces composants sont peu sensibles à la digestion trypsique et ne sont pas précipités par les agents déprotéinisants anioniques légers. Ces données nous

TABLEAU II. — A : Effet de divers lots d'albumine commerciale sur l'inhibition non spécifique de la streptolysine O. B : Effets comparés d'une albumine commerciale active et de diverses albumines purifiées.

| | SÉRUMS SEULS | SÉRUMS ADDITIONNÉS D'ALBUMINE | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------------|-------------------------------|---------------------------|------------------------------|-----------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A : n° des lots d'albumine FV | | 75 | 76 | 303 | 345 | 37I | 374 | 379 | 386 | 387 |
| Taux d'inhibition de la streptolysine | 6 400 | I 200 | I 000 | | I 200 | I 200 | I 000 | I 200 | 3 200 | 6 400 |
| | 6 400 | I 600 | | I 600 | | | | | | |
| | 6 400 | 3 200 | | 3 200 | | | | | | |
| | 960 | 200 | 200 | | | | | | | |
| | 240 | 240 | 120 | | | | | | | |
| B : Nature des préparations | SÉRUMS SEULS | FRACTION V LOT 75 | ALBUMINE HUMAINE PURIFIÉE | MERCAPTALBUMINE CRISTALLISÉE | ALBUMINE BOVINE | | | | | |
| | | | | | I | 2 | | | | |
| Taux d'inhibition de la streptolysine | 800 | 375 | | | 800 | 500 | 500 | | | |
| | 800 | 500 | | | 800 | 800 | 350 | | | |
| | 400 | 200 | | | 300 | 350 | 350 | | | |
| | 800 | 200 | | | 800 | 800 | 800 | | | |
| | 480 | 240 | | | | 400 | 480 | | | |
| | 6 400 | 800 | I 600 | | | | | | | |
| | 3 200 | 400 | 400 | | | | | | | |
| | 800 | 200 | 200 | | | | | | | |
| | 6 400 | 800 | I 600 | | | | | | | |
| | I 600 | 400 | 800 | | | | | | | |

ont conduits à éprouver la fraction V après élimination totale de l'albumine par digestion trypsique et précipitation trichloracétique selon la technique suivante :

300 mg de fraction V sont dissous dans 3 ml d'eau salée physiologique. On ajoute à cette solution 30 mg de trypsine purifiée « Prolabo » dissoute dans 2 ml de tampon véronal de pH 8,6 et

de force ionique 0,1. Le mélange est incubé quarante-huit heures à 37° C sous III gouttes de toluène. La préparation est ensuite clarifiée par centrifugation et déprotéinisée par addition de 1,25 ml d'acide trichloracétique à 20 p. 100 à 4° C. L'albumine restante qui précipite est éliminée par centrifugation après dix minutes de repos. Le liquide surnageant est dialysé contre un grand

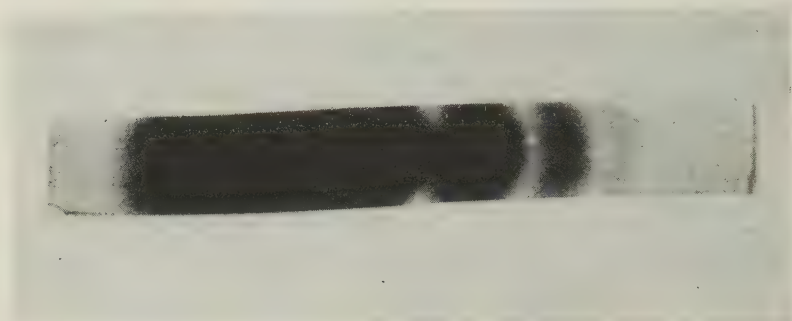


FIG. 2. — Electrophorèse en gel d'amidon de l'albumine commerciale. L'électrophorèse en gel d'amidon de la fraction V (FV) montre la présence de globulines de type α_1 à côté de l'albumine.

TABLEAU III. — Effets de la délipidation de l'albumine commerciale FV sur son pouvoir de diminuer l'inhibition non spécifique de la streptolysine O.

| TITRE D'ASL DES SÉRUMS SEULS | TITRE D'ASL APRÈS ADDITION D'ALBUMINE FV | |
|---------------------------------|---|-----------|
| | Non délipidée | Délipidée |
| 1 600 | 500 | 500 |
| 6 400 | 1 600 | 500 |
| 3 200 | 1 600 | 1 600 |
| 3 200 | 1 200 | 1 200 |
| 1 200 | 500 | 800 |
| 3 200 | 1 000 | 800 |
| 6 400 | 1 200 | 1 200 |
| 6 400 | 800 | 500 |
| 6 400 | 1 200 | 1 000 |
| 6 400 | 1 600 | 1 000 |
| 3 200 | 1 200 | 1 200 |
| 6 400 | 1 200 | 1 200 |

La délipidation de l'albumine FV ne modifie pas son action de façon significative.

volume de tampon phosphate isotonique à pH 7,4 pendant une nuit à la glacière. Avec ce liquide, la réaction du biuret donne la couleur rose violacé caractéristique des peptides de faible poids moléculaire.

La digestion trypsique suivie de déprotéinisation trichloracétique ne modifie pas la capacité de la fraction V d'abaisser franchement le taux des « fausses antistreptolysines », ainsi que le montrent les résultats réunis dans le tableau IV.

TABLEAU IV. — Effet de la digestion trypsique, suivie de précipitation perchlorique de l'albumine non digérée, sur le pouvoir de la fraction FV commerciale.

| TAUX D'ANTISTREPTOLYSINE DES | | |
|------------------------------|---|--------------|
| SÉRUMS SEULS | MÊMES SÉRUMS APRÈS ADDITION DE LA FRACTION PLASMATIQUE FV | |
| | Complète | Désalbuminée |
| 3 200 | 800 | 800 |
| 6 400 | 200 | 200 |
| 6 400 | 400 | 800 |
| 800 | 400 | 500 |
| 6 400 | 1 600 | 1 600 |
| 6 400 | 1 600 | 800 |
| 700 | 400 | 500 |
| 800 | 500 | 500 |
| 6 400 | 1 200 | 3 200 |

Privée d'albumine, la fraction FV conserve son pouvoir de diminuer le titre de l'inhibition non spécifique de la streptolysine.

Puisque la plupart des mucoprotéines se situent dans les α_1 -globulines, nous avons séparé les fractions protéiniques du sérum par électrophorèse sur papier et nous avons éprouvé séparément le pouvoir de ces fractions vis-à-vis de l'inhibition non spécifique de la streptolysine par divers sérums pathologiques. L'expérience rapportée dans le tableau V montre que le pouvoir d'abaisser le taux d'inhibition non spécifique de la streptolysine se situe bien dans les globulines α_1 et accessoirement dans la fraction albuminique. Les autres fractions électrophorétiques, et en particulier les globulines α_2 , n'ont aucun effet.

Ayant ainsi établi que le pouvoir d'abaisser l'inhibition non spécifique de la streptolysine était principalement détenu par des α_1 mucoprotéines, nous avons directement éprouvé les filtrats per-

TABLEAU V. — Effet des diverses fractions électrophorétiques du sérum humain sur l'inhibition non spécifique de la streptolysine O.

| SÉRUMS SEULS | MEMES SÉRUMS ADDITIONNÉS DES FRACTIONS ÉLECTROPHORÉTIQUES PROVENANT DE SÉRUMS NORMAUX | | | | |
|--------------|---|------------|------------|---------|----------|
| | albumine | α_1 | α_2 | β | γ |
| 6 400 | 1 600 | 1 200 | 6 400 | 6 400 | 6 400 |
| 3 200 | 3 200 | 1 600 | 3 200 | 3 200 | 3 200 |
| 6 400 | 6 400 | 1 600 | 6 400 | 6 400 | 6 400 |
| 3 840 | 3 840 | 480 | 3 840 | 3 840 | 3 840 |
| 6 400 | 3 200 | 800 | 6 400 | 6 400 | 6 400 |
| 1 600 | 1 600 | 400 | 1 600 | 1 600 | 1 600 |
| 1 920 | 1 920 | 960 | 1 920 | 1 920 | 1 920 |

Le pouvoir de diminuer cette inhibition appartient exclusivement à la fraction α_1 et, à un degré moindre, à l'albumine ou à un composant migrant avec l'albumine.

chloriques de divers sérums et de différents lots de fraction FV. On sait, en effet, que ces filtrats contiennent surtout des mucoprotéines α_1 [14].

Les expériences furent effectuées de la façon suivante :

Après dilution au 1/10 du sérum dans l'eau bidistillée, on fait une précipitation par 5 volumes d'acide perchlorique à 12 p. 100 à 0° C. Après centrifugation, neutralisation du surnageant à pH 7 et dialyse contre de l'eau physiologique à 0,9 p. 100, nous avons concentré les solutions par dialyse contre du subtosan à 25 p. 100. Après une nouvelle dialyse contre le tampon phosphate isotonique, nous avons dosé la concentration en protéine par lecture dans l'ultra-violet à 280 m μ .

Les surnageants perchloriques obtenus à partir de sérums ou de solutions de FV font baisser le taux antistreptolytique non spécifique des sérums pathologiques ; ceci à des doses infiniment plus faibles que ne le fait l'albumine FV (tableau VI).

DISCUSSION.

Un sérum peut donc inhiber le pouvoir hémolytique de la streptolysine O (réactivée par la cystéine) soit parce qu'il contient des inhibiteurs non spécifiques de nature lipidique, soit parce qu'il contient l'anticorps antistreptolytique spécifique. Nous avons montré l'action remarquable de certains lots d'albumine commerciale FV. A faibles doses, ces préparations sont capables

TABLEAU VI. — Action des mucoprotéines perchlorosolubles sur l'inhibition non spécifique de la streptolysine O.

| SÉRUMS SEULS | MEMES SÉRUMS ADDITIONNÉS DE MUCOPROTÉINES PERCHLORO-SOLUBLES DE LA FRACTION FV | | |
|--------------|---|------------|---|
| Taux d'ASL | Quantité de protéine ajoutée par tube (mg) | Taux d'ASL | Chute du taux d'ASL provoqué par l'addition des mucoprotéines % |
| 6 400 | 0,06 | 4 000 | 37 % |
| 3 200 | 0,06 | 1 600 | 50 % |
| 800 | 0,02 | 500 | 37,95 % |
| 3 200 | 0,06 | 1 600 | 50 % |
| 800 | 0,02 | 700 | 12,5 % |
| 6 400 | 0,07 | 1 600 | 75 % |
| SÉRUMS SEULS | MEMES SÉRUMS ADDITIONNÉS DE MUCOPROTÉINES PERCHLORO-SOLUBLES DE SÉRUMS DIVERS NORMAUX | | |
| 6 400 | 0,43 | 800 | 88 % |
| 6 400 | 0,46 | 800 | 88 % |
| 6 400 | 1,15 | 800 | 88 % |
| 750 | 0,07 | 600 | 20 % |
| 6 400 | 0,40 | 800 | 88 % |
| 6 400 | 0,20 | 3 200 | 50 % |

Le filtrat perchlorique dialysé et concentré obtenu à partir de divers lots de fraction FV ou de divers sérums, a la propriété d'abaisser le titre de l'inhibition non spécifique de la streptolysine O.

d'abaisser le titre d'inhibition de la streptolysine quand celle-ci est due aux inhibiteurs non spécifiques, alors qu'ils ne modifient pas l'inhibition produite par l'anticorps streptococcique. Ce phénomène n'est pas lié à l'albumine, mais à une ou plusieurs des mucoprotéines accompagnant l'albumine au cours de sa préparation par la méthode de Cohn. Puisqu'il s'agit sûrement de globulines du type α_1 et que les « fausses antistreptolysines » sont de nature lipidique, diverses hypothèses relatives à leur interprétation peuvent être proposées : rappelons d'abord que, dans un travail antérieur, nous avons montré qu'il n'y avait pas interaction entre la streptolysine et la fraction FV et qu'en conséquence c'était bien une action de FV sur le sérum qu'il fallait admettre.

On sait que les lipides interviennent dans certaines réactions enzymatiques qu'ils peuvent potentialiser ou inhiber (Cf. Polonovsky [41]). Les propriétés inhibitrices des globulines α_1 vis-à-vis de diverses réactions enzymatiques sont par ailleurs connues

(Cf. Montreuil [7]). On peut donc penser qu'il existe une enzyme sérique normalement inactive sur la streptolysine, qui se trouve activée par un lipide anormal dans les sérums contenant une « fausse ASL ». Cette enzyme sérique serait inhibée par une mucoprotéine α_1 ajoutée avec la fraction V. Une autre hypothèse ferait intervenir une action directe de la mucoprotéine sur le lipide doué de propriété inhibante sur la streptolysine. Il a été montré, en effet, que, dans certaines conditions (délipidation expérimentale), les globulines α_1 pouvaient avoir une affinité considérable pour certains lipides (Scanu et Hugues [12]). L'action d'une mucoprotéine α_1 sur les « fausses antistreptolysines » pourrait alors s'expliquer par leur fixation préférentielle sur cette mucoprotéine avec blocage de leurs groupes réactogènes.

CONCLUSION.

Certain(e)s mucoprotéine(s) accompagnant habituellement l'albumine FV dans la méthode 9 de Cohn de fractionnement des protéines plasmatiques ont la propriété de diminuer l'inhibition de la streptolysine O par les sérums contenant un inhibiteur non spécifique. Ces mucoprotéines n'ont aucun effet quand l'inhibition de la streptolysine est due à sa combinaison avec l'anticorps spécifique. Des hypothèses sont proposées pour l'explication du phénomène.

RÉSUMÉ.

Le pouvoir hémolytique de la streptolysine O peut être inhibé dans le sérum, soit par un anticorps spécifique, l'antistreptolysine O, soit par des inhibiteurs non spécifiques de nature lipidique. L'anticorps migre avec les globulines γ_2 et γ_1 . Les inhibiteurs non spécifiques se retrouvent dans les globulines α et β .

Si on fait le dosage de l'antistreptolysine O par la méthode de Todd en présence de certains échantillons d'albumine humaine commerciale FV, on constate que le taux d'inhibition de la streptolysine est franchement abaissé quand l'inhibiteur n'est pas l'anticorps streptococcique. Le taux n'est, au contraire, pas modifié quand il correspond à une inhibition par l'anticorps. Ce phénomène n'est pas dû à l'albumine, car il peut être obtenu après digestion trypsique de celle-ci suivie de précipitation par l'acide trichloracétique et dialyse contre un tampon neutre.

Les protéines sériques ont été séparées par électrophorèse et les fractions γ , β , α_2 , α_1 et A ont été éprouvées. Seule la fraction α_1 se révéla capable de diminuer le pouvoir des inhibiteurs non spécifiques de la streptolysine. Il existe donc une ou plusieurs protéines de la fraction α_1 présentes dans la fraction FV de Cohn

et solubles dans l'acide perchlorique qui possèdent une propriété très particulière vis-à-vis de l'inhibition non spécifique de la streptolysine.

Le phénomène peut être expliqué par deux hypothèses.

Dans la première, le sérum posséderait une enzyme capable d'inhiber la streptolysine, mais, normalement inactive, cette enzyme serait potentialisée par un lipide présent dans les sérums à fausse ASL ; la mucoprotéine α_1 agirait en inhibant ce système enzymatique.

Dans la seconde, on admet que la mucoprotéine a une affinité particulière pour certains lipides sériques dont elle bloque les groupes réactogènes. Elle aurait donc ici une action directe sur les lipides responsables de l'inhibition non spécifique de la streptolysine.

SUMMARY

STUDIES ON THE NON SPECIFIC INHIBITOR OF O STREPTOLYSIN.

II. — ELECTIVE DECREASE OF INHIBITORY CAPACITY PROVOKED BY AN α_1 GLOBULIN PRESENT IN COHN'S V FRACTION.

The hemolytic capacity of O streptolysin can be inhibited in serum, either by a specific antibody (O antistreptolysin), or by non specific lipidic inhibitors. The antibody migrates with the γ_2 and γ_1 globulins. The non specific inhibitors are found in the α and β globulins.

If O antistreptolysin is assayed by Todd's method in presence of certain samples of commercial FV human albumin, the results show that the inhibition titer of streptolysin is markedly lowered when the inhibitor is not the specific antibody. On the contrary, this titer is not altered when the inhibition is due to the specific antibody. The phenomenon does not depend on the albumin fraction : it can be observed after tryptic digestion of albumin, followed by precipitation by 12 % perchloric acid.

Serum proteins were separated by electrophoresis and the fractions α , β , α_2 , α_1 and A were tested. Only the α_1 fraction decreases the inhibitory capacity of non specific inhibitors. Therefore, there exist one (or several) proteins of the α_1 fraction present in Cohn's FV fraction and soluble in perchloric acid, which possess a very peculiar property in the non specific inhibition of streptolysin.

The phenomenon may be explained by two hypotheses :

1. Serum possesses an enzyme, able to inhibit streptolysin, but inactive in normal conditions ; this enzyme is activated by a lipid present in sera containing « false antistreptolysin » ; the mucoprotein α_1 inhibits this enzymic system.

2. The mucoprotein has a particular affinity for certain serum lipids ; it blocks the reactogenic groups of these lipids ; it would therefore have a direct action on the lipids responsible for the non specific inhibition of streptolysin.

*
**

Nous remercions bien vivement le Dr J. J. Perez de nous avoir aimablement donné les lots d'albumine humaine purifiée et d'albumine bovine cristallisée, le Dr J. Lewin de nous avoir aimablement fourni les divers lots d'albumine commerciale (fraction V) et le Dr Fine pour les électrophorèses en gel d'amidon des différents lots de fraction V.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BADIN (J.) et CABAU (N.). *Path. Biol.*, 1959, **7**, 1559.
- [2] CABAU (N.) et BADIN (J.). *C. R. Soc. Biol.*, 1959, **43**, 390.
- [3] CABAU (N.). *C. R. Soc. Biol.*, 1960, **44**, 325.
- [4] CABAU (N.). *Ann. Biol. clin.*, 1961 (à paraître).
- [5] GOODMAN (D. S.). *Science* 1957, **125**, 1296.
- [6] GORDON (R. S.). *J. clin. Invest.*, 1955, **34**, 427.
- [7] MONTREUIL (J.). *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1957, **39**, sup. III, 3.
- [8] OKER-BLOM (N.), NIKKILA (E.) et KALAJA (T.). *Ann. Med. exp. Biol. Fenniae*, 1950, **28**, 124.
- [9] PACKALEN (T.). *J. Bact.*, 1958, **56**, 143.
- [10] PEREZ (J. J.), CABAU (N.), WAHL (R.) et BADIN (J.). *Rev. Franç. Et. clin. biol.*, 1959, **4**, 1040.
- [11] POLONOVSKY (J.). *Exp. An. Chim. Biol.*, 1955, **17**, 319.
- [12] SCANU (A.) et HUGUES (W. L.). *J. biol. Chem.*, 1960, **235**, 287.
- [13] STOLLERMAN (G. H.), BERNHEIMER (A. W.) et MAC LEOD (C. M.). *J. clin. Invest.*, 1950, **29**, 1637.
- [14] TODD (E. W.). *Brit. J. exp. Path.*, 1932, **13**, 248.
- [15] VAUX SAINT-CYR (C. DE), COURCON (J.) et GRABAR (P.). *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1958, **40**, 579.
- [16] WAHL (R.), PEREZ (J.-J.) et CABAU (N.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, **95**, 129.
- [17] WINZLER (R. J.). In *Chemistry and biology of mucopolysaccharides*, Ciba Symposium, p. 245. Churchill, éd., Londres, 1958.

EFFETS CYTOPATHOGENES DES ADENOVIRUS TYPE 5

I. — ASPECTS MORPHOLOGIQUES

par M^{lle} Y. CHARDONNET, M. PRUNIERAS et R. SOHIER (*).

(Laboratoire d'Hygiène de la Faculté de Médecine, Lyon)

Dans une précédente étude (Sohier et coll. [33]) portant sur l'étude de 17 types d'adénovirus, nous avons tenté, après d'autres [1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 14, 15, 16, 19, 20, 25, 26, 27, 28, 29, 32] de définir les lésions qu'ils provoquent dans les cellules en culture. Nous avons été ainsi amenés à admettre l'existence, d'une part, d'une lésion commune à tous les types et caractérisée par la formation d'une masse centrale intranucléaire, d'autre part, d'altérations rencontrées plus spécialement pour certains types ou mieux groupes de types. Ainsi avons-nous décrit des aspects en « sacs de noix », en « fleurs » ou en « soleil », tout en attirant l'attention sur l'impossibilité dans laquelle on se trouve en pratique d'identifier d'après ces seules données morphologiques le type de virus en cause (Sohier et coll. [34]).

Nous désirerions revenir de façon plus détaillée sur les modalités d'apparition et l'évolution des lésions cellulaires provoquées par l'adénovirus type 5, lequel est d'ailleurs l'un de ceux qui ont déjà été l'objet d'un assez grand nombre de travaux que nous ne saurions tous citer ici [8, 9, 11, 12, 17, 18, 23, 24, 26, 28, 31].

Une des raisons qui nous ont incités à présenter les résultats de notre étude, est qu'elle comporte non seulement des schémas mais des microphotographies des principales altérations cellulaires observées.

MATÉRIEL ET MÉTHODES.

VIRUS. — L'agent pathogène est un adénovirus type 5, provenant du Laboratoire du professeur Huebner, reçu en 1956. Ce virus a été passé sur cellules HeLa et sur cellules TL. Les effets cytopathogènes ont été étudiés aux troisième, quatrième, cinquième et sixième passages du virus dans notre laboratoire.

Les observations portant sur la formation de cristaux ont été effectuées avec une suspension de virus provenant du sixième passage (lot 5-912). Ce lot a été préparé sur fiole de Kolle de cellules HeLa âgée de 4 jours, ensemencées avec 0,3 ml de suspension de virus

(*) Société Française de Microbiologie, séance du 2 mars 1961.

type 5 (dilution 10^{-1}) et 30 ml de milieu de survie, dégénérées en quatre jours. Le liquide contenant les cellules dégénérées est centrifugé à 3 000 tours/minute pendant dix minutes. Le surnageant est conservé à -20°C sous faibles volumes. Le titre infectieux de ce surnageant est de : $10^{5,16}$ par millilitre (lecture au septième jour) ou $10^{6,50}$ par millilitre (lecture au quatorzième jour) sur cellules T1. On introduit 1 030 DICT₅₀ pour 1,5 ml de milieu de survie par tube à lamelle semencé à 60 000 cellules, après quarante-huit heures d'incubation à 36°C . Les cellules choisies pour les observations cytologiques sont les cellules T1 de rein humain maintenues en culture continue depuis 1956 au laboratoire.

MÉTHODES D'OBSERVATION. — Examen au microscope en lumière ordinaire des cellules fixées par séchage à l'air ou par l'alcool acétique 9/1 et coloration au Giemsa (Geigy), ou vert de méthyl pyronine (Geigy), à l'hématéine-éosine et à l'érythrosine-orange-G, bleu de toluidine.

Examen *in vivo* au microscope à contraste de phase (Leitz) et au microscope à contraste de phase interférentiel (système Nomarski).

Examen au microscope à contraste de phase (Wild) de préparations fixées à l'alcool acétique lavées et montées au sirop d'apathy, avec ou sans coloration préalable, par un des tests cytochimiques qui seront analysés dans l'article suivant.

RÉSULTATS.

Les résultats des examens *in vivo* seront analysés dans un travail ultérieur consacré à l'étude cinétique des effets cytopathogènes des adénovirus type 5 tels qu'ils sont révélés par les enregistrements microcinématographiques.

A partir du noyau de la cellule normale les lésions caractéristiques apparaissent telles qu'elles sont présentées sur les dessins semi-schématiques ci-joints.

Sur le schéma I (fig. 1) représentant un noyau normal vu au contraste de phase après fixation alcool-acétique, on note la répartition égale des grains chromatiniens. Seuls sont visibles les nucléoles dont certains sont parfois vacuolisés.

Le schéma II (fig. 1) montre comment apparaissent dans le noyau les premières lésions décelables, soit en contraste de phase sur cellules fixées, soit par la recherche de l'éosinophilie nucléaire. Toujours à distance des nucléoles et de la membrane basale apparaissent soit des grains isolés au nombre de 4 à 10 environ nettement éosinophiles, soit une petite zone arrondie de 2 à 3 μ de diamètre, faiblement éosinophile et composée de grains éosinophiles très fins. Parfois, les grains éosinophiles peuvent s'agglomérer au nombre de 6 ou 8 pour former une petite masse étoilée (pl. I, fig. 1). Parfois certains de ces grains sont en réalité de très petits anneaux éosinophiles d'un diamètre inférieur à 1 μ . Il est très fréquent d'observer autour de ces éléments

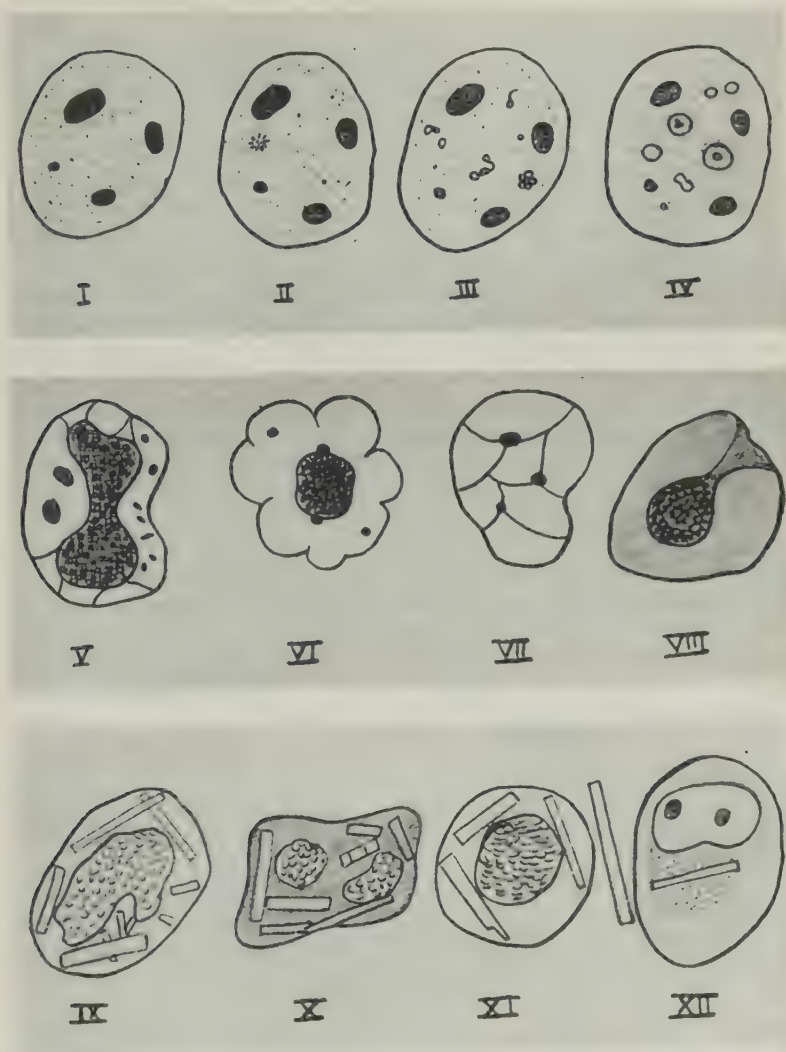


FIG. 1. — Evolution des effets cytopathogènes des adénovirus type 5 (voir explication dans le texte).

éosinophiles une zone claire chromophobe qui sépare nettement l'inclusion éosinophile du matériel nucléaire.

Le schéma III (fig. 1) montre le développement des grains primaires. Ceux-ci se transforment rapidement en petits anneaux

de 1 à 2 μ de diamètre, parfois réunis en chapelet (pl. I, fig. 2), parfois isolés et parfois appendus à un petit filament éosinophile plus ou moins tortueux (pl. I, fig. 3). Dès cet instant, on observe la raréfaction de la chromatine nucléaire, tandis que les nucléoles demeurent apparemment normaux.

Le schéma IV (fig. 1) montre le développement ultérieur des formations éosinophiles. On voit apparaître des anneaux pouvant atteindre 4 à 5 μ de diamètre, parfois plus, strictement circulaires ou ovalaires (pl. I, fig. 4). Ces anneaux sont rapidement entourés d'un petit nuage de grains très fins, basophiles, tandis que dans le cercle qu'ils délimitent apparaît un matériel basophile mal précisé, au sein d'une zone éosinophile. Au centre de ces anneaux on peut observer dans certains cas un petit cercle concentrique qui donne à cet anneau un aspect de disque (pl. I, fig. 5). Dans ces cas on trouve en allant de l'extérieur vers l'intérieur : 1° un petit nuage de grains très fins périphériques, basophiles ; 2° la membrane éosinophile de l'anneau ; 3° des rangées concentriques de petits grains basophiles ; 4° le petit cercle central éosinophile et 5° très inconstamment un gros grain basophile central (pl. II, fig. 6). Ces anneaux et ces disques entourés de leur nuage basophile finement granuleux sont situés au sein d'un vaste réseau basophile qui s'étend à presque toute la surface du noyau tout en respectant ordinairement les nucléoles et en se trouvant séparés de la membrane nucléaire par un espace clair de 2 à 3 μ environ de largeur.

Les schémas I, II, III et IV (fig. 1) objectivent ainsi la formation du réseau centronucléaire qui correspond à ce qu'on peut appeler la « période éosinophile ».

Dans la période suivante illustrée par les schémas V, VI, VII, VIII (fig. 1), on assiste à la formation des masses centrales typiques.

Le schéma V montre la densification et la rétraction du réseau du schéma IV. La basophilie augmente considérablement tandis que l'espace entre la membrane nucléaire et le réseau augmente et se compartimente (pl. II, fig. 7). Les nucléoles se retrouvent dans cet espace apparemment peu modifiés. Cet aspect de rétraction et de densification du réseau en une masse centrale représente l'évolution caractéristique des adénovirus en général.

Le schéma VI (fig. 1) montre l'aspect en « fleur » plus particulier au type 5. Cet aspect provient des festons formés par la membrane nucléaire (pl. II, fig. 8).

Le schéma VII (fig. 1) représente un autre type d'évolution sensiblement différent. La formation du réseau qui suit l'apparition des inclusions éosinophiles primaires n'a pas eu lieu normalement. Par contre, la formation de vastes espaces clairs de type vacuolaire a suivi la disparition presque complète de la

basophilie nucléaire et la masse centrale typique ne s'est pas formée (pl. II, fig. 9).

Le schéma VIII montre que, dans le cas où la masse centrale se forme normalement, celle-ci peut rester attachée à la membrane nucléaire par un véritable pédicule. De plus, l'espace clair entre la masse centrale et la membrane nucléaire peut se trouver obscurci par un nuage finement granuleux (pl. II, fig. 10).

Les schémas V, VI, VII, VIII objectivent ainsi la formation de la masse centrale par « pétalisation » du noyau.

Cette période peut être appelée « période basophile » par opposition à la période précédente. Toutefois, cette période basophile apparaît plus ou moins complètement achevée selon le degré d'évolution du réseau apparu à la fin de la première période. De plus, au sein des espaces clairs des schémas V, VI, VII, ou des espaces sombres du schéma VIII, peuvent apparaître des formations cristallines représentées par les schémas suivants.

Le schéma IX (fig. 1) montre la présence de cristaux clairs de formes et de tailles variables survenant dans les espaces clairs (pl. III, fig. 11).

Le schéma X (fig. 1) montre des cristaux sombres apparaissant dans les espaces sombres (pl. III, fig. 12). Parfois, parmi ces cristaux sombres, on trouve un cristal sombre dans sa partie moyenne, mais clair aux deux extrémités.

Le schéma XI (fig. 1) illustre la disposition périphérique courante des cristaux clairs à l'intérieur du noyau et la situation extra-nucléaire de l'un d'entre eux (pl. III, fig. 14).

Quant au schéma XII, il représente un phénomène d'exception, à savoir : l'apparition, au sein d'une zone granuleuse juxtanucléaire, mais strictement extranucléaire, d'un cristal clair entièrement contenu dans cette zone, tandis que le noyau ne présente aucune lésion cytologiquement décelable (pl. III, fig. 15).

Les schémas IX, X, XI et XII caractérisent ainsi une troisième période dite de « cristallisation ».

DISCUSSION.

Les faits d'observation que nous rapportons ne méritent pas une longue discussion puisqu'ils ne font que corroborer les descriptions morphologiques déjà publiées par d'autres auteurs. C'est ainsi que les inclusions éosinophiles ont déjà été signalées comme représentant les stades de début de l'infection virale [2, 3, 6, 7, 9, 11, 12, 20, 26, 29, 32] ; de même les anneaux ont été décrits d'une manière comparable [2, 11, 12, 20, 26]. Nous n'insisterons pas sur la formation de la masse centrale par densification

et rétraction d'un réseau basophile. Nous en avons donné ailleurs des illustrations (Sohier et coll. [33]).

Au cours de la formation de ce réseau, nous avons retrouvé la présence de nuages basophiles autour des anneaux acidophiles, formation qui va de pair avec la constitution du réseau basophile lui-même [12, 22]. On est tenté, devant l'organisation structurale des anneaux et surtout des disques, d'envisager que ce matériel acidophile joue un rôle de support et d'orientation dans l'organisation des grains basophiles néoformés qui apparaissent à leur pourtour ou au sein même de leurs cercles concentriques. Mais la constatation des images du type figuré par le schéma VII (fig. 1) laisse supposer que l'apparition des structures éosinophiles n'entraîne pas obligatoirement celle des structures basophiles. Il est probable qu'à partir du moment où les premières inclusions éosinophiles apparaissent, le noyau se trouve dans un état d'équilibre précaire qui peut permettre la synthèse virale, aboutissant, mais non forcément, aux masses centrales classiques. Nous aurions ainsi tendance à rapprocher les aspects du type du schéma VII (fig. 1), des effets toxiques déjà supposés dans un travail précédent [30].

En ce qui concerne les cristaux, nos observations viennent également en confirmation des travaux déjà connus [5, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 17, 18, 21, 22, 23, 24, 26, 28, 31].

Bien que n'ayant pas bénéficié d'une étude en microscopie électronique, nos observations nous permettent deux brefs commentaires.

La différence entre cristaux clairs et cristaux sombres se trouve morphologiquement mise en évidence par la constatation de cristaux panachés. La portion médiane sombre et les extrémités claires font supposer que les cristaux sombres ne sont en rien différents des cristaux clairs, mais qu'ils peuvent parfois être enrobés d'un matériel finement granuleux qui leur donne cette apparence.

Un autre bref commentaire nous paraît également justifié au sujet de la localisation extranucléaire de certains cristaux. S'il est évident que dans l'immense majorité des cas les cristaux extranucléaires sont des cristaux qui sont « sortis » du noyau d'une manière ou d'une autre, le schéma XII (fig. 1) et la fig. 15 (pl. III) bien qu'illustrant une observation d'exception, ne permettent pas d'attribuer une origine nucléaire au cristal présent dans le cytoplasme. De plus, la présence d'une zone de grains très bien limitée au sein de laquelle le cristal est situé, suggère qu'une réaction spécifique strictement intracytoplasmique à l'infection par adénovirus, pour exceptionnelle qu'elle soit, n'est pas impossible.

RÉSUMÉ.

Les effets cytopathogènes des adénovirus type 5 sur cellules T1 se développent en trois périodes : 1° une période *primaire* caractérisée par des inclusions éosinophiles prenant certains aspects particuliers en anneaux et en disques ; 2° une période *secondaire* caractérisée par la formation d'une ou de plusieurs masses centrales à partir d'une zone basophile dont les rapports avec les inclusions éosinophiles sont brièvement discutés ; 3° une période *tertiaire* caractérisée par l'apparition autour de la masse centrale et au sein du noyau de cristaux clairs et de cristaux sombres. Les cristaux sombres sont vraisemblablement des cristaux clairs enrobés d'un matériel finement granuleux. En outre, on ne saurait affirmer que tous les cristaux présents dans le cytoplasme ont été formés dans le noyau d'où ils sont sortis au cours de sa destruction. L'apparition de cristaux dans le cytoplasme en l'absence d'altération du noyau, du moins décelable par les méthodes utilisées, mérite d'être à nouveau recherchée.

SUMMARY.

CYTOPATHOGENIC EFFECTS OF ADENOVIRUSES TYPE 5.

I. MORPHOLOGICAL ASPECTS.

The cytopathogenic effects of adenoviruses type 5 on T1 cells develop in three stages. A first stage, characterized by eosinophilic inclusion bodies, presenting certain peculiar forms (rings and discs). A second stage, characterized by the formation of one or several central clumps originating from a basophilic zone ; the relationships of this zone with the eosinophilic inclusion bodies are briefly discussed. A third stage, characterized by the appearance around the central mass and within the nucleus, of light and dark crystals. The dark ones probably are light crystals coated with a material composed of minute granules. Besides, it is impossible to state if all crystals present in the cytoplasm have been formed in the nucleus and passed into the cytoplasm after destruction of the nucleus. The appearance of crystals in the cytoplasm deserves further study.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BALDUCCI (D.), ZAIMAN (E.) and TYRRELL (D. A. J.). *Brit. J. exp. Path.*, 1956, **37**, 305.
- [2] BARSKI (G.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1956, **91**, 614.
- [3] BARSKI (G.) et CORNEFERT (F.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, **94**, 724.

- [4] BEALE (A. J.), DOANE (F.) and ORMSBY (N. L.). *Amer. J. Ophthal.*, 1957, **43**, 26.
- [5] BLOCH (D. P.), MORGAN (C.), GODMAN (G. C.), HOWE (C.) and ROSE (H. M.). *J. Biophys. Biochem.*, 1957, **3**, 1.
- [6] BOYER (G. S.), LEUCHTENBERGER (C.) and GINSBERG (H. S.). *J. exp. Med.*, 1957, **105**, 195.
- [7] BOYER (G. S.), DENNY (F. W.) and GINSBERG (H. S.). *J. exp. Med.*, 1959, **109**, 85.
- [8] BOYER (G. S.), DENNY (F. W.) and GINSBERG (H. S.). *J. exp. Med.*, 1959, **110**, 827.
- [9] BOYER (G. S.), FLOYD (W. D.), MILLER (M. D.) and GINSBERG (H. S.). *J. exp. Med.*, 1960, **112**, 865.
- [10] DROUHET (V.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1957, **93**, 138.
- [11] FUKUMI (H.), NISHIKAWA (F.) and EJIMA (S.). *Jap. J. med. Sci. Biol.*, 1957, **10**, 321.
- [12] GODMAN (G. C.), MORGAN (C.), BREITENFIELD (Ph. D.) and ROSE (H. M.). *J. exp. Med.*, 1960, **112**, 383.
- [13] HARFORD (C.), HAMLIN (A.), PARKER (E.) and RAVENSWAAY (T. von). *J. exp. Med.*, 1956, **104**, 443.
- [14] HILLEMANN (M. R.) and WERNER (J. H.). *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1954, **85**, 183.
- [15] JAWETZ (E.), KIMURA (S.), NICHOLAS (A. N.), THYGESON (P.) and HANNA (L.). *Science.*, 1955, **122**, 1190.
- [16] KJELLEN (L.). *Arch. ges. Virusf.*, 1955, **6**, 45.
- [17] KJELLEN (L.), LAGERMALM (G.), SVEDMYR (A.) and THORSSON (K. G.). *Nature*, 1955, **175**, 505.
- [18] LAGERMALM (G.), KJELLEN (L.), THORSSON (K. G.) und SVEDMYR (A.). *Arch. ges. Virusf.*, 1957, **7**, 221.
- [19] LÉPINE (P.), CHANY (Ch.) et ROBBE-FOSSAT (F.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1956, **91**, 607.
- [20] LÉPINE (P.), CHANY (Ch.), MAURIN (J.) et CARRÉ (M. C.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, **94**, 724.

PLANCHE I

- FIG. 1. — Erythrosine orange-bleu de toluidine (EOBT), $\times 1\,400$ env. Grains éosinophiles (GE) agglomérés au sein de la masse nucléaire (voir schéma II).
- FIG. 2. — EOBT, $\times 1\,400$ env. Nombreux petits anneaux isolés ou en chapelets, répartis à distance des nucléoles dans deux noyaux cellulaires (voir schéma III).
- FIG. 3. — EOBT, $\times 1\,400$ env. Long filament éosinophile tortueux, en relation avec un nucléole à une extrémité (voir schéma III).
- FIG. 4. — EOBT, $\times 1\,400$ env. Anneaux de taille variable au sein d'un réseau basophile (voir schéma IV).
- FIG. 5. — EOBT, $\times 1\,400$ env. Disques agglomérés en chapelets au sein du réseau basophile (voir schéma IV).

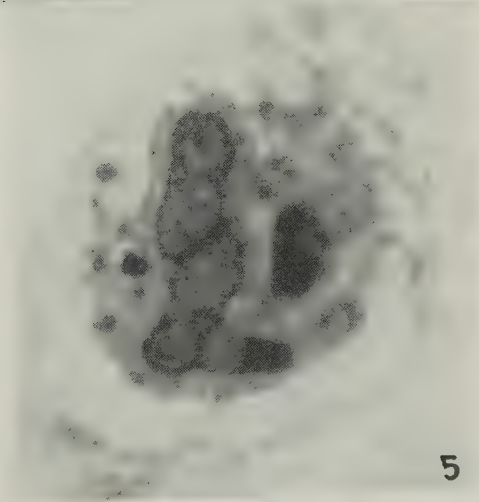
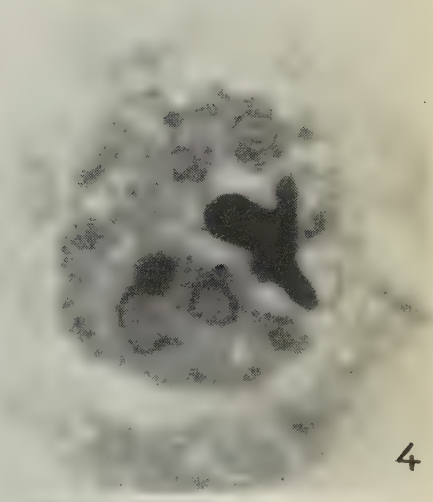
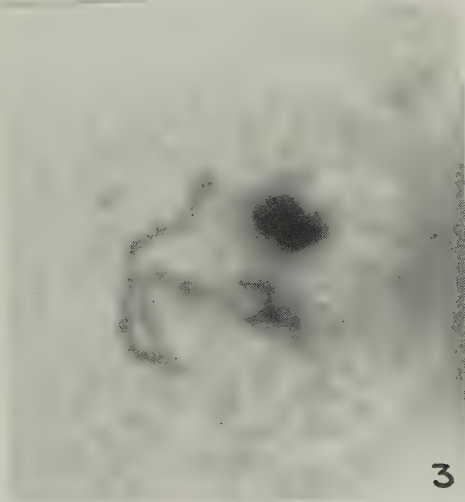
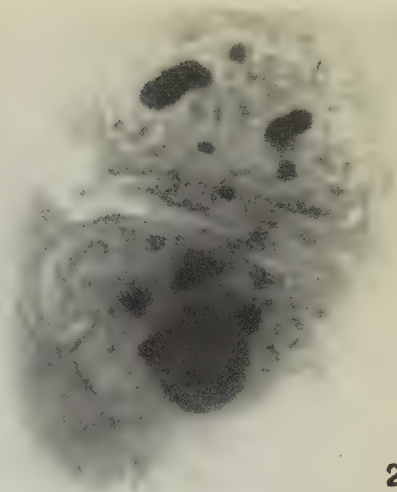


PLANCHE II

FIG. 6. — EOBT, $\times 1\,400$ env. Grands disques au sein d'un réseau basophile ; l'un de ces disques présente un grain basophile central (voir schéma IV).

FIG. 7. — EOBT, $\times 1\,400$ env. Densification et rétraction du réseau basophile (voir schéma V).

FIG. 8. — EOBT, $\times 1\,400$ env. Très forte basophilie de la masse centrale et « pétalisation » (voir schéma VI).

FIG. 9. — EOBT, $\times 1\,400$ env. Vacuolisation précoce du noyau autour de deux inclusions éosinophiles primaires (IEP). Deux nucléoles marqués (N) [voir schéma VII].

FIG. 10. — EOBT, $\times 1\,400$ env. Les « espaces clairs » sont obscurcis par un nuage finement granuleux (voir schéma VIII).

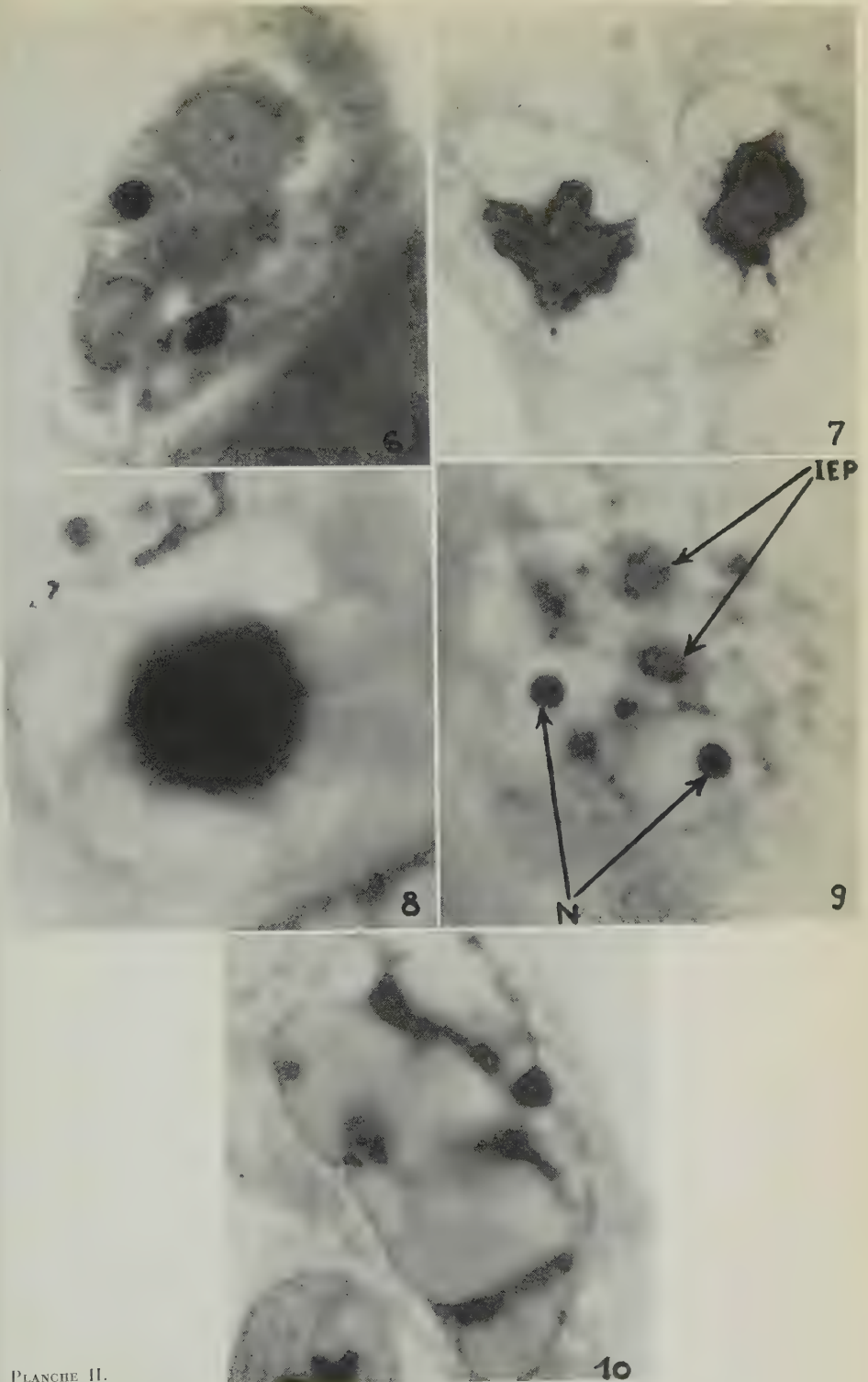


PLANCHE II.

PLANCHE III

FIG. 11. — EOBT, $\times 1\,400$ env. Grands cristaux clairs autour de la masse centrale (voir schéma IX).

FIG. 12. — EOBT, $\times 1\,400$ env. Cristaux clairs et cristaux sombres (voir schéma X).

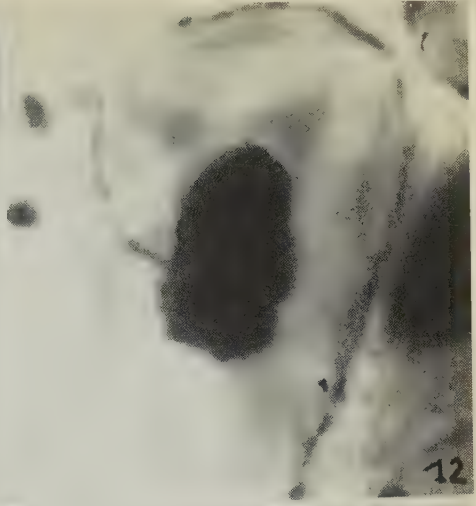
FIG. 13. — Contraste de phase, $\times 1\,400$ env. Cristaux sombres et cristaux panachés (voir schéma X).

FIG. 14. — Giemsa, $\times 1\,000$ env. Cristaux clairs intranucléaires. Deux cristaux extra-nucléaires (voir schéma XI).

FIG. 15. — Contraste de phase, $\times 1\,400$ env. Cristal clair situé dans une zone granuleuse sombre intracytoplasmique. Pas de lésion nucléaire visible (voir schéma XII).



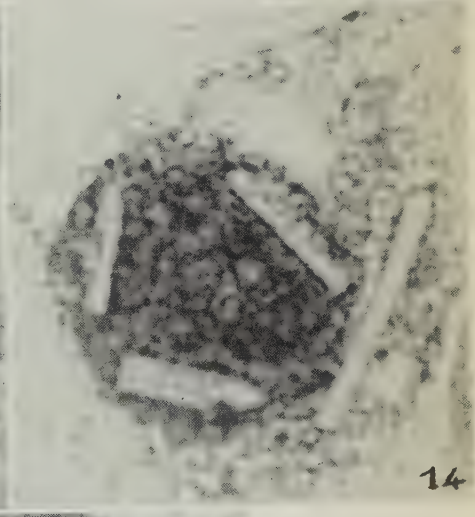
11



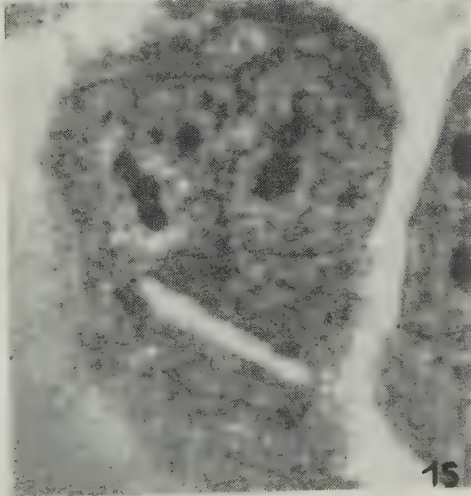
12



13



14



15

- [21] LEUCHTENBERGER (C.) and BOYER (G. S.). *J. Biophys. Biochem.*, 1957, **3**, 323.
 - [22] MORGAN (C.), HOWE (C.), ROSE (H. M.) and MOORE (D. H.). *J. Biophys. Biochem.*, 1956, **2**, 351.
 - [23] MORGAN (C.), GODMAN (G. C.), ROSE (H. M.), HOWE (C.) and HUANG (J. S.). *J. Biophys. Biochem.*, 1957, **3**, 505.
 - [24] MORGAN (C.), GODMAN (G. C.), ROSE (H. M.), BREITENFIELD (Ph. D.) and ROSE (H. M.). *J. exp. Med.*, 1960, **112**, 372.
 - [25] NASZ (I.) and TOTH (M.). *Acta Microbiol.*, 1958, **5**, 377.
 - [26] NASZ (I.) and TOTH (M.). *Acta Microbiol.*, 1959, **6**, 85.
 - [27] ORFILA (J.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, **94**, 794.
 - [28] PEREIRA (H. G.), ALLISON (A. C.) and BALFOUR (B.). *Virology*, 1959, **7**, 300.
 - [29] PRIER (J. E.) and LE BEAU (R. W.). *Amer. J. Path.*, 1958, **34**, 789.
 - [30] PRUNIERAS (M.) et CHARDONNET (Y.). *Presse méd.*, 1958, **32**, 718.
 - [31] ROSE (H. M.), MORGAN (C.), GODMAN (G. C.) and HOWE (C.). *VII^e Congrès internat. Microbiol.*, Stockholm, 1958 (Résumé des travaux présentés), Tunevall, édit., 1958.
 - [32] ROWE (W. P.), HUEBNER (R. J.), GILMORE (L. K.), PARROTT (R. H.) and WARD (T. G.). *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1953, **84**, 570.
 - [33] SOHIER (R.), PRUNIERAS (M.) et CHARDONNET (Y.). *Path. et Biol.*, 1960, **8**, 885.
 - [34] SOHIER (R.), PRUNIERAS (M.) et CHARDONNET (Y.). *Sem. Hôp.*, 1960, **58**, 3229/SP 525.
-

LA TECHNIQUE DE SÉRO-IDENTIFICATION RAPIDE DES VIRUS POLIOMYÉLITIQUES DANS LES SELLES

II. — PARTIE THÉORIQUE

par F. ROGER, Annie ROGER et G.-L. DAGUET (*).

(Institut Pasteur, Service des Virus [D^r P. Lépine],
et Laboratoire Central de Sérologie, hôpital Saint-Louis)

Le typage sérologique des virus poliomyélitiques comporte trois paramètres : *le virus* dont on veut déceler la présence, *les anticorps* qui permettent de le caractériser et *les cellules* qui servent de milieu de culture pour le virus et jouent en même temps le rôle d'indicateur de réaction, les phénomènes observés étant la *destruction des cellules* par le virus et la *protection des cellules* contre cette destruction par les anticorps homologues.

A. — ÉTUDE DES CONDITIONS D'ISOLEMENT DANS LA TECHNIQUE DE SÉRO-IDENTIFICATION RAPIDE.

Le système virus-cellules est étudié seul pour chaque « séro-identification rapide » dans les trois tubes témoins (tubes 1, 2 et 3) qui ne reçoivent pas de sérum de référence et dans les tubes où le virus est en présence des anticorps hétérologues.

La sensibilité dans la mise en évidence du virus dépend au premier chef des cellules qui doivent être capables de déceler la plus petite quantité possible de virus actif dans *chaque unité sensible* (c'est-à-dire chaque tube de Kahn), en l'absence des anticorps.

Or, la quantité susceptible d'être décelée augmente pour chaque unité sensible avec la durée d'observation des cultures.

Si nous diluons, en effet, un virus poliomyélitique de 0,5 en 0,5 log, nous constatons que la période de survie des cellules est d'autant plus longue que la dilution du virus est plus élevée.

La figure 1 correspondant au tableau I, objective ce phénomène pour les trois types de virus poliomyélitiques avec les souches Mahoney pour le type I, MEF1 pour le type II et Saukett pour le type III (courbes A, B, C).

(*) Société Française de Microbiologie séance du 8 décembre 1960.

La seule présence des virus ne suffit donc pas pour que soit observé un effet cytopathogène : il faut encore que le nombre des particules soit devenu assez grand, par suite de la multiplication virale, pour que la destruction des cellules se manifeste : les cellules sont donc incapables de signaler d'emblée par des lésions caractéristiques un petit nombre de particules virulentes, bien

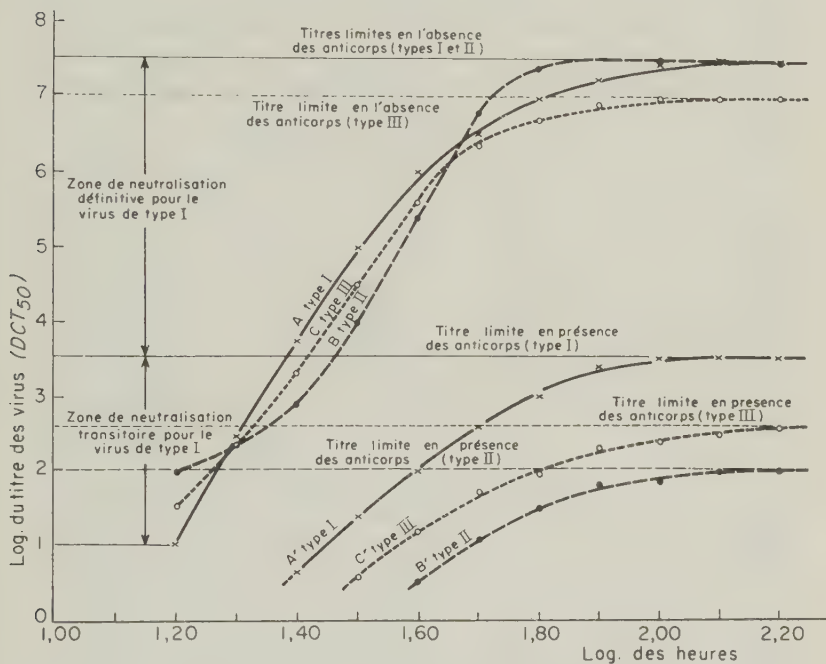


FIG. 1. — Variation du titre limite 50 p. 100 de trois suspensions de virus poliomyélitique en fonction du temps de lecture (courbes A, B, C obtenues en l'absence d'anticorps homologues et courbes A', B', C', en leur présence).

qu'elles soient capables simultanément d'en assurer le développement : il existe, par conséquent, entre la valeur des cellules comme milieu de culture et leur valeur comme indicateur de réaction une différence de sensibilité considérable.

L'artifice essentiel des isoléments consiste, par suite, à apprécier l'effet obtenu, la destruction des cellules, non pas en se basant sur la quantité de virus inoculée au départ (qui serait beaucoup trop faible) mais sur la descendance des particules infectantes originellement présentes dans l'inoculum et à compenser, en somme,

TABLEAU I. — Evolution du titre de 3 suspensions de virus poliomyéliquies en fonction du temps de lecture en présence et en l'absence d'une faible concentration des anticorps homologues.

| Ordre des observations. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|----------------------------------|
| Logarithme des temps de lecture | 1,20 | 1,30 | 1,40 | 1,50 | 1,60 | 1,70 | 1,80 | 1,90 | 2,00 | 2,10 | 2,20 |
| Temps correspondant (en heures) | 16 | 20 | 25 | 32 | 40 | 50 | 63 | 78 | 100 | 126 | 158 |
| Type I (S. Mahoney) Titre 10e jour: 10 ^{7,5} | 1,00 | 2,45 | 3,75 | 5,00 | 6,00 | 6,50 | 7,00 | 7,25 | 7,45 | 7,50 | Titre 50% au moment des lectures |
| Type II (S. W. E. F.) Titre 10e jour: 10 ^{7,5} | 2,00 | 2,40 | 2,90 | 4,00 | 5,40 | 6,80 | 7,40 | 7,50 | 7,50 | 7,50 | |
| Type III (S. Saukett) Titre 10e jour: 10 ^{7,0} | 1,50 | 2,40 | 3,30 | 4,50 | 5,60 | 6,40 | 6,70 | 6,90 | 7,00 | 7,00 | |
| | | | | | | 0,50 | 1,10 | 1,50 | 1,90 | 2,00 | 2,00 |

Dans chaque case, le nombre du haut exprime le titre du virus seul et le nombre du bas le titre du virus en présence des anticorps.

par un *décalage dans le temps* (entre le moment où l'on inocule et celui où l'on effectue la lecture) le décalage qui existe toujours entre le nombre des particules indispensables à l'effet cytopathogène et le nombre réellement introduit dans les cultures.

Cette façon de faire augmente évidemment la sensibilité de l'isolement de toute la capacité de multiplication des virus, qui est énorme en cultures cellulaires, et rend finalement possible la détection d'une seule particule de virus actif par tube dans l'inoculum à condition, toutefois, de poursuivre les observations aussi longtemps qu'il le faudra pour qu'aucune lésion nouvelle n'apparaisse plus dans les cultures.

Dans la pratique, tout le problème est donc de savoir pendant combien de temps il sera nécessaire d'observer les cultures.

L'examen de 17 titrages de virus effectués avec un espacement de 0,5 log, a montré que le titre, qui évolue rapidement pendant les trois premiers jours et plus lentement entre le troisième et le cinquième jour, progresse encore en moyenne de 0,1 log pour les trois types entre le cinquième jour et le dixième jour par suite de l'apparition de quelques destructions isolées dans les tubes situés au voisinage de la limite de dilution du virus. En toute rigueur, il vaudra donc mieux, au cours d'un isolement, attendre dix jours avant d'effectuer la dernière lecture.

Ceci oblige, en contre-partie, à préserver les cellules de toute lésion non spécifique pendant la durée des observations.

Or, nous savons déjà que les cellules de souche, résistent mal lorsque leur multiplication est ralentie, de sorte que nous nous sommes adressés pour l'isolement sur cellules KB, comme nous l'avions déjà fait pour les réactions de séro-neutralisation, à un véritable milieu de multiplication et non pas à un milieu de survie.

Le système cellulaire utilisé comme substrat pour la multiplication du virus est donc un système cinétique, c'est-à-dire un système où les cellules se multiplient activement pendant une partie au moins de la période d'observation.

Dans un tel système, l'intervalle de temps pendant lequel on peut effectuer les observations sans constater d'altérations non spécifiques est conditionné par le nombre de cellules utilisées comme inoculum.

Cette dépendance est évidente d'après la figure 2 (correspondant au tableau II), où les courbes A et B ont été obtenues, toutes choses égales par ailleurs, avec deux quantités de cellules initialement distinctes (la méthode utilisée étant la dispersion quotidienne des cellules par trypsination dans une série de 10 tubes de Kahn avant numération à la cellule de Nageotte).

L'explication de cette dépendance est relativement simple et se déduit clairement de l'examen des courbes de croissance : dans le

milieu à l'hydrolysate de caséine à 10 p. 100 de sérum de veau, la multiplication des cellules commence en effet, d'emblée, sans phase de latence, aussitôt après l'ensemencement des cellules dans les tubes de Kahn (1).

Le nombre des cellules augmente d'à peu près 1,75 fois chaque jour pendant la phase exponentielle de croissance qui cesse lorsque les cellules sont aux environs de 360 000 dans chaque tube de cul-

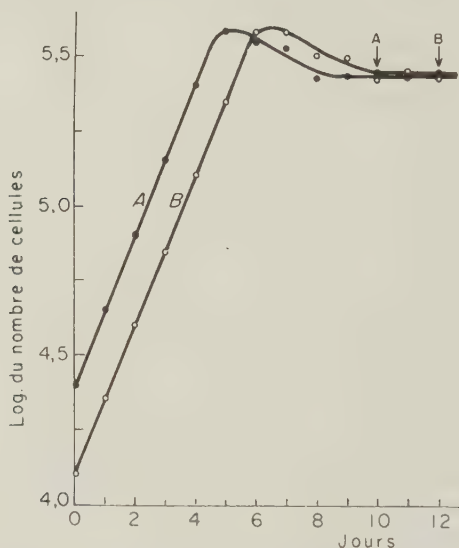


FIG. 2. — Influence de la quantité de cellules initialement introduite dans les tubes de Kahn sur la durée de survie des cultures. (Les flèches indiquent l'apparition des lésions cellulaires non spécifiques).

ture. Après quoi, les cellules se maintiennent sans altération notable et sans réduction de nombre pendant cinq à six jours.

La durée de la phase exponentielle, la seule sur laquelle nous pouvons agir, sera donc bien *fonction inverse de la quantité de cellules ensemencées, le nombre maximum des cellules étant d'autant plus tardivement obtenu que le nombre initial aura été plus faible.*

Avec la quantité de cellules utilisées dans cette technique (25 000

(1) L'absence de phase de latence tient à ce que les cellules ensemencées dans les tubes proviennent elles-mêmes de cellules dispersées par trypsination pendant la phase exponentielle de leur croissance ou légèrement après, mais en tout cas, *toujours avant* la phase de régression des cultures.

TABLEAU II. — Croissance des cellules KB dans le milieu à l'hydrolysate de caséine selon le nombre de cellulesensemencé au départ.

| Temps de lecture en jours | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|--|--|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Résultats obtenus avec 25.000 cellules au départ. | Nombre de cel- lules par tube(en mil- liers) 25 | 44,5 | 80 | 140 | 250 | 380 | 345 | 330 | 263 | 260 | 262 | 265 |
| | Logarithme du nombre de cellules | 4,40 | 4,65 | 4,90 | 5,15 | 5,40 | 5,58 | 5,54 | 5,52 | 5,42 | 5,42 | 5,42 |
| Résultats obtenus avec 12.500 cellules au départ. | Nombre de cellules par tube (en mil- liers) 12,5 | 22,5 | 40 | 72 | 126 | 225 | 375 | 375 | 375 | 320 | 310 | 265 |
| | Logarithme du nombre de cellules | 4,10 | 4,35 | 4,60 | 4,85 | 5,10 | 5,35 | 5,57 | 5,57 | 5,50 | 5,49 | 5,42 |

cellules par tube), quantité correspondant à un nombre de cellules suffisant pour que la lecture puisse être facile dès le début de la culture, nous avons :

$$25\,000 \times (1,75)^5 = 360\,000$$

et la phase exponentielle aura donc une durée de cinq jours.

Cette période de cinq jours, ajoutée à la période constante de survie (également de cinq jours), porte donc bien à dix jours la période d'observation utile.

Ces dix jours comportent, en fait, une marge de sécurité considérable aussi bien du point de vue de l'isolement que du typage.

Pour l'isolement, la figure 1 montre bien que la proportion de lésions nouvelles dans les cultures, si elle n'est pas rigoureusement nulle dans la période finale des observations, est déjà tout à fait négligeable plusieurs jours auparavant, l'accroissement du titre étant extrêmement faible à partir du quatrième jour.

C'est aussi vers le cinquième ou sixième jour que l'ensemble des 15 tubes de la réaction devient inutilisable *pour le typage* : après ce laps de temps, en effet, les nouvelles lésions qui apparaissent sont provoquées par des concentrations limites de virus et, corrélativement, ne se manifestent plus que dans *une partie* seulement des tubes correspondant à une dilution, les autres tubes, dépourvus de virus demeurant indéfiniment indemnes.

Ces concentrations limites, *incapables de détruire les cellules dans les 15 tubes nécessaires à un typage* en l'absence des anticorps homologues, sont donc tout à fait inutilisables puisqu'elles ne permettent plus de savoir ce qui revient aux immunsérums ou ce qui revient à l'absence de virus dans les tubes non détruits.

Si, par conséquent, l'isolement doit encore être poursuivi après le cinquième jour, le typage doit, au contraire, être considéré, comme terminé à cette date.

Dans le système à 25 000 cellules utilisé, le typage s'effectue donc pratiquement sur des cellules en phase exponentielle de croissance alors que l'isolement se poursuit encore pendant la phase consécutive de survie.

B. — ETUDE DES CONDITIONS DE TYPAGE DANS LA TECHNIQUE DE SÉRO-IDENTIFICATION RAPIDE.

Les conséquences de l'introduction des anticorps dans le système virus-cellules sont observées avec cette réaction par l'intermédiaire des 3 tubes où un virus poliomyélique se trouve en présence des anticorps homologues.

Pour utiliser au mieux *le seul réactif, l'immunsérum, sur lequel nous pouvons agir* avant d'effectuer le mélange (puisque

la concentration du virus dans l'extrait de selles nous est inconnue) il faut évidemment étudier quantitativement le comportement relatif de la suspension de virus et de l'immunsérum homologue dans les conditions choisies pour l'inactivation immunologique.

Nous avons donc repris pour le système cinétique KB les études préalablement entreprises par d'autres pour des systèmes sta-

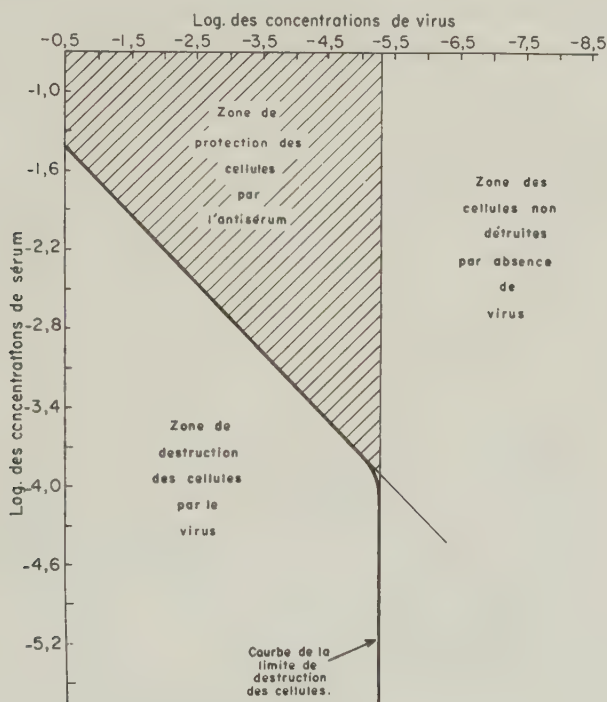


FIG. 3. — Les trois zones de titrage en échiquier d'un virus poliomyélitique contre le sérum homologue (souche Saukett de type III contre un immunsérum de lapin).

tiques de culture [1, 2], et nous avons porté des concentrations variables de virus au contact de concentrations également variables de sérum homologue. Nous avons fait, par conséquent, des titrages en échiquier (en utilisant un espacement de 0,3 log pour les dilutions sériques et de 0,5 log pour les dilutions de virus), les quantités de réactifs étant celles ultérieurement employées pour les typages (2). Après incubation de trois heures

(2) Voir première partie.

à 37° C, nous avons distribué la suspension de cellules et l'huile de vaseline avant de remettre les portoirs à l'étuve et de les suivre microscopiquement pendant dix jours.

Les résultats obtenus (correspondant à une séro-inactivation en présence d'un excès d'anticorps, l'immunsérum demeurant présent dans le milieu de culture après le contact de trois heures à 37° C [4]), sont consignés dans les tableaux III, IV et V et dans les figures 3, 4 et 5 qui leur correspondent.

Pour une lecture effectuée en un temps donné, la surface obtenue en portant sur un graphique à coordonnées rectangulaires d'un côté le logarithme des concentrations de virus et de l'autre le logarithme des concentrations de sérum peut être séparée en trois zones (fig. 3).

1° Une zone où les cellules ne sont pas détruites *par insuffisance relative en virus* (qui se trouve dilué au-delà du titre limite capable de provoquer la destruction des cellules au moment des observations).

2° Une zone détruite *par excès de virus* par rapport à l'anticorps (excès strictement défini par rapport au moment de l'observation).

3° Une zone protégée *par excès d'anticorps*.

Les deux dernières zones sont séparées entre elles par une portion linéaire de la courbe représentative de la limite momentanée de destruction (ou « front de destruction cellulaire »), inclinée par rapport aux deux axes, et qui peut être considérée comme faisant partie intégrante de la « droite d'inactivation immunologique » (ou « droite de neutralisation »), cette droite correspond à un équilibre *momentané* entre l'antigène virulent et l'anticorps qui inhibe son développement.

Au voisinage du titre limite du virus, la portion linéaire de la courbe se raccorde progressivement, en s'infléchissant, avec la droite (verticale sur le graphique) qui représente précisément le *titre limite* du virus au moment où les observations sont effectuées.

Si l'on fait une série de lecture au cours du temps comme cela est, par conséquent, le cas avec le procédé de typage décrit ici,

TABLEAU III. — Evolution d la destruction des cellules sensibles par le virus poliomyélitique de type I (souche Mahoney) en présence de l'immunsérum homologue.

Chaque case représente un tube de Kahn, chaque chiffre l'état des cellules au moment d'une lecture. 0 = pas de destruction ; 1 = destruction limitée au premier quart ; 2 = limitation aux deux premiers quarts, etc. de la lecture ; 4 = destruction totale.

7 lectures au total (12 h, 21 h, 37 h, 49 h, 66 h, 87 h et 240 h).

TABLEAU III.

| Log. conc. sérum | - Logarithme des concentrations de virus - | | | | | | | | | | | |
|------------------------|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | -1,0 | -1,5 | -2,0 | -2,5 | -3,0 | -3,5 | -4,0 | -4,5 | -5,0 | -5,5 | -6,0 | -6,5 |
| -1,0 | | | | | | | | | | | | -7 |
| -1,3 | | | | | | | | | | | | |
| -1,6 | 0 0 0 | 0 0 0 | | | | | | | | | | |
| -1,9 | 0 0 0 | 0 0 0 | | | | | | | | | | |
| -2,2 | 0 0 1 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | | | | | | | | |
| -2,5 | 0 0 1 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | | | | | | | |
| -2,8 | 0 0 4 | 0 0 1 | 0 0 0 | 0 0 1 | 0 0 0 | 0 0 0 | | | | | | |
| -3,1 | 0 3 4 | 0 0 3 | 0 0 1 | 0 0 1 | 0 0 0 | 0 0 0 | | | | | | |
| -3,4 | 4 4 4 | 0 1 4 | 0 0 1 | 0 0 1 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | | | | | |
| -3,7 | 4 4 4 | 1 4 4 | 0 0 2 | 0 0 1 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | | | | | |
| -4,0 | 4 4 4 | 3 4 4 | 0 0 3 | 0 0 1 | 0 0 1 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | | | | |
| -4,3 | 4 4 4 | 4 4 4 | 0 2 4 | 0 0 4 | 0 0 1 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | | | | |
| -4,6 | 4 4 4 | 4 4 4 | 1 4 4 | 0 1 4 | 0 0 4 | 0 0 3 | 0 0 2 | 0 0 1 | 0 0 0 | 0 0 0 | | |
| -4,9 | 4 4 4 | 4 4 4 | 2 4 4 | 1 2 4 | 0 1 4 | 0 0 4 | 0 0 3 | 0 0 3 | 0 0 1 | 0 0 0 | 0 0 0 | |
| -5,2 | 4 4 4 | 4 4 4 | 3 4 4 | 1 3 4 | 0 1 4 | 0 1 4 | 0 0 4 | 0 0 1 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | |
| -5,5 | 4 4 4 | 4 4 4 | 3 4 4 | 1 4 4 | 0 2 4 | 0 1 4 | 0 0 4 | 0 0 3 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 | 0 0 0 |

le « front de destruction cellulaire » progresse au fur et à mesure des observations en même temps qu'augmente le titre du virus étudié en l'absence des anticorps, les phénomènes successivement observés étant représentés, pour le virus de type III par exemple,

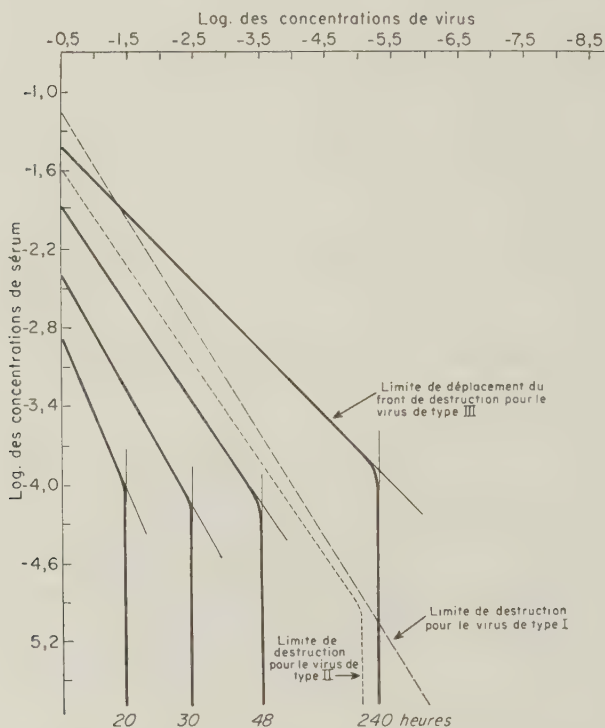


FIG. 4. — Déplacement du front de destruction cellulaire au cours du temps lors du titrage en échiquier du virus de type III contre le sérum de lapin homologue.

sur la figure 4 où ont été portés les résultats de quatre lectures successives.

Ce graphique extériorise bien la relation entre la pente de la droite d'inactivation et la période d'observation des cultures, la

TABLEAU IV. — Evolution de la destruction des cellules KB par le virus poliomyélitique de type II (MEF1) en présence du sérum homologue.

Chaque case représente un tube de Kahn ; chaque chiffre l'état des cellules (voir tableau III) au moment d'une lecture (7 lectures : 13 h, 25 h, 42 h, 62 h, 92 h, 114 h et 240 h).

pente de la droite apparaissant comme une véritable fonction du temps.

Après un certain délai toutefois, la droite ne se déplace plus et la limite du phénomène est atteinte : cela se produit pratiquement vers le cinquième jour avec le système utilisé, c'est-à-dire, nous l'avons vu, vers la fin de la période exponentielle de croissance des cellules, à un moment aussi où les lésions cessent de progresser de façon appréciable en l'absence des anticorps.

La droite d'inactivation pourrait donc être utilisée pour les typages, puisque son existence suffit par elle-même à caractériser spécifiquement le complexe antigène-anticorps. Il n'y aurait pas alors à se soucier du moment où pourrait être effectuée la lecture, ou ce qui revient au même, à tenir compte de la pente de la droite d'inactivation.

Un tel procédé serait pourtant complètement inadapté au but à atteindre, la simple caractérisation du virus, car il exigerait des manipulations considérables en raison du grand nombre de tubes et des grande quantités de réactifs qui deviendraient indispensables.

Aussi, le typage sérologique rapide des virus poliomyélitiques doit-il être traité avec le maximum de simplicité, c'est-à-dire comme une réaction purement qualitative à virus constant (mais de titre inconnu) et sérum constant (dont la concentration peut être intentionnellement fixée).

Le seul problème est donc de préciser la concentration de sérum de référence à utiliser pour le typage ; la figure 5 qui représente deux positions de la droite d'inactivation, une position initiale (correspondant au moment où les premières destructions totales sont apparues) et la position terminale (atteinte lorsque le front de destruction cellulaire ne progresse plus), nous aidera beaucoup à en trouver la solution.

Le typage à sérum constant représente en effet, par rapport à toutes les concentrations possibles de virus, une ligne horizontale sur cette figure et il existe, selon la position de cette droite, trois zones distinctes.

La première correspond aux concentrations élevées de l'immunsérum (zone α du graphique et concentration représentée par la position a de la droite horizontale par exemple). Dans cette zone toutes les concentrations de virus étudiées sont neutralisées *complètement et définitivement* par le sérum : le virus est donc incapable de se multiplier, quelle qu'en soit la concentration et quel que soit le moment où l'on effectue la lecture.

Aux concentrations de sérum correspondant à la zone β (et à la concentration représentée par la droite b par exemple) toutes les

concentrations *inférieures* à I (intersection de la droite d'inactivation terminale et de l'horizontale correspondant à la concentration sérique étudiée) sont également neutralisées de façon *définitive*, mais les concentrations *supérieures* à I sont seulement neutralisées pour une observation réalisée *avant* la fin de la progression de la droite d'inactivation et d'autant plus précoce-

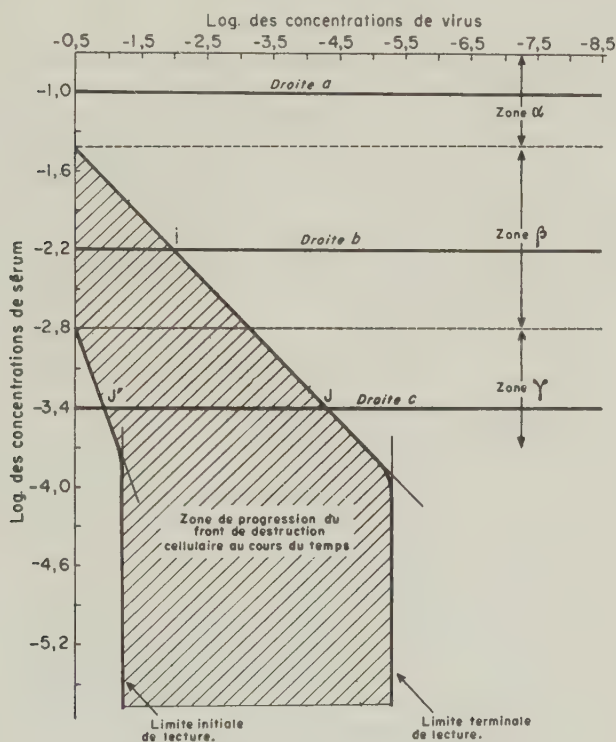


FIG. 5. — Les trois zones α , β et γ des typages.

ment que la concentration de virus est plus élevée ; elles ne le sont plus si la lecture du portoir est très tardive. Si, par conséquent, on veut utiliser un sérum à cette concentration, il faudra compter comme positifs au typage, non seulement le blocage définitif de la destruction cellulaire, mais encore toutes les inhibitions transitoires apportées à la croissance du virus.

Enfin, dans la zone γ (où se trouve la droite c par exemple) on voit que toutes les quantités de virus supérieures à J' ne sont

jamais neutralisables, tandis que les doses comprises entre J et J' le seront transitoirement, et que les concentrations *inférieures* à J le seront *de façon définitive*.

La zone γ doit donc être évitée pour les typages comme susceptible de conduire à une réponse faussement négative avec les virus de titre élevé.

Il reste les zones α et β .

La zone α ou « de neutralisation définitive » donne une réponse constamment valable, indépendante du temps de lecture : l'examen peut donc être effectué très tôt avec les virus de titre élevé qui détruisent rapidement les cellules (ce qui fera gagner du temps pour le diagnostic) ; il pourra aussi être fait plus tardivement avec les virus de titre faible qui détruisent lentement les cellules, ce qui permettra d'utiliser totalement la période d'observation de cinq à six jours dont on dispose pour les typages. L'inconvénient de ce procédé est toutefois l'utilisation des sérums à des concentrations relativement élevées, ce qui entraîne une forte consommation de réactif.

La zone β , beaucoup plus économique vis-à-vis du sérum, permet une technique cinétique de typage (proche de celle utilisée pour les séro-neutralisations) mais exige, en revanche, des observations très rapprochées au début de la lecture : les résultats ne sont, en effet, valables, dans leur ensemble, que pour une observation effectuée au moment précis où les destructions sont complètes dans les trois témoins sans sérum de référence. Elle exige, par conséquent, une surveillance beaucoup plus poussée et beaucoup plus soignée de la réaction.

La figure 1 illustre bien la différence des deux techniques : les courbes A, B, C, y représentent, en effet, la destruction des cellules en fonction du temps en l'absence des immunsérums, et les courbes A', B', C', la destruction des cellules en fonction du temps en présence d'une quantité faible d'anticorps homologues, choisie à l'intérieur de la zone β .

On retrouve sur cette figure les deux bandes de concentration à comportement distinct (figurées ici pour le seul virus de type I) : la bande des concentrations supérieures à I et le titre limite du

TABEAU V. — Evolution de la destruction des cellules KB par le virus poliomyélitique de type III (Saukett) en présence du sérum homologue.

Chaque case représente un tube de Kahn, chaque chiffre l'état des cellules (voir tableau III) au moment d'une lecture (7 lectures : 12 h, 21 h, 37 h, 49 h, 66, h, 87 h et 240 h).

TABLEAU V.

| Log. conc. sérum : | | - Logarithme des concentrations de virus - | | | | | | | | | | | |
|--------------------------|---------|--|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | -1,0 | -1,5 | -2,0 | -2,5 | -3,0 | -3,5 | -4,0 | -4,5 | -5,0 | -5,5 | -6,0 | -7 |
| -1,0: | 0 0 0 0 | | | | | | | | | | | | |
| -1,3: | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | | | | | | | | | | | |
| -1,6: | 0 0 1 1 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | | | | | | | | | | |
| -1,9: | 0 0 1 1 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | | | | | | | | | | |
| -2,2: | 0 0 1 2 | 0 0 0 1 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | | | | | | | |
| -2,5: | 0 0 2 4 | 0 0 1 2 | 0 0 1 1 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | | | | | | | |
| -2,8: | 0 2 4 4 | 0 1 3 4 | 0 0 1 2 | 0 0 0 1 | 0 0 0 1 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | | | | | |
| -3,1: | 2 3 4 4 | 0 2 4 4 | 0 0 2 4 | 0 0 1 2 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | | | | | |
| -3,4: | 3 4 4 4 | 1 3 4 4 | 0 1 4 4 | 0 0 2 4 | 0 0 0 2 | 0 0 0 1 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | | | |
| -3,7: | 3 4 4 4 | 2 3 4 4 | 0 2 4 4 | 0 1 4 4 | 0 0 2 4 | 0 0 2 4 | 0 0 2 4 | 0 0 1 2 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | | |
| -4,0: | 4 4 4 4 | 4 4 4 4 | 0 2 4 4 | 0 4 4 4 | 0 1 2 4 | 0 1 2 4 | 0 1 2 4 | 0 0 1 2 | 0 0 0 1 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | |
| -4,3: | 4 4 4 4 | 4 4 4 4 | 0 3 4 4 | 0 2 4 4 | 0 1 3 4 | 0 1 3 4 | 0 1 3 4 | 0 0 1 2 | 0 0 0 1 | 0 0 0 1 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | |
| -4,6: | 4 4 4 4 | 4 4 4 4 | 0 3 4 4 | 0 2 4 4 | 0 1 4 4 | 0 1 4 4 | 0 1 4 4 | 0 0 1 2 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | |
| -4,9: | 4 4 4 4 | 3 4 4 4 | 0 2 4 4 | 0 2 4 4 | 0 1 3 4 | 0 1 3 4 | 0 1 2 4 | 0 0 1 2 | 0 0 1 2 | 0 0 0 1 | 0 0 0 1 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 |
| -5,2: | 4 4 4 4 | 2 3 4 4 | 0 3 4 4 | 0 2 4 4 | 0 1 4 4 | 0 1 4 4 | 0 1 2 4 | 0 0 1 3 | 0 0 1 2 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 |
| -5,5: | 4 4 4 4 | 3 4 4 4 | 0 3 4 4 | 0 2 4 4 | 0 1 4 4 | 0 1 4 4 | 0 0 3 4 | 0 0 2 4 | 0 0 1 3 | 0 0 0 1 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 | 0 0 0 0 |

virus où la neutralisation est transitoire, et la bande de concentration comprise entre I et le titre limite du virus où la neutralisation est définitive.

Avec une forte concentration d'anticorps correspondant à la zone α , les courbes de la destruction des cellules en présence des anticorps (courbes A', B', C') sont purement et simplement supprimées sur la figure 1, la protection par les anticorps étant définitive pour toutes les concentrations étudiées.

Dans la technique simplifiée décrite ici, nous avons préféré employer les sérums dans la zone de neutralisation définitive (zone α), malgré les quantités de sérum relativement grandes qui deviennent alors indispensables, car la production des antisérums spécifiques de titre élevé est relativement facile avec les virus poliomyélitiques : la surveillance moins étroite des réactions (compatible avec leur emploi sur une grande échelle au laboratoire) est ainsi possible sans qu'il y ait, pour autant, diminution dans la fidélité de la réponse immunologique.

C. — SENSIBILITÉ DE LA MÉTHODE POUR LA DÉTECTION DES VIRUS POLIOMYÉLITQUES DANS LES SELLES.

Il est difficile, à moins d'introduire un virus titré dans les selles, d'en connaître réellement la concentration et de la comparer à celle finalement étudiée par les techniques d'isolement, ce qui permettrait d'apprécier l'efficacité et la fidélité du procédé.

Aussi avons-nous adopté par obligation cette méthode, les selles et le virus de titre connu étant introduits ensemble dans un broyeur de verre pour être traités et homogénéisés ensuite par le procédé décrit dans le précédent article.

5 g de selles et 0,45 ml de virus ont ainsi été mis en suspension dans un volume final de 100 ml.

Le titre aurait donc dû être réduit par dilution de 2 log : il l'a été effectivement, en moyenne, de 2,5 log (0,5 log ayant été perdus par adsorption sur les selles et le sable de Fontainebleau).

L'extrait de selles doit, par conséquent, renfermer $10^{2,5}$ DCT₅₀ sous le volume de 100 ml pour être capable de détruire 50 p. 100 des tubes de Kahn inoculés.

Les selles doivent donc contenir $10^{2,5}$ DCT₅₀ de virus/5 g ou $10^{1,8}$ DCT₅₀/1 g ou encore 1 DTC₅₀/67 mg pour que le virus puisse être décelé dans un tube de Kahn sur deux, et comme il faut, au moins, 10 DTC₅₀ pour que la destruction cellulaire atteigne régulièrement 100 p. 100 des tubes de culture, on peut considérer que le *typage* n'est possible que s'il existe au moins 1 DTC₅₀ pour 6,7 mg de selles.

CONCLUSION.

Le procédé de séro-identification rapide des virus poliomyélitiques dans les selles présente les garanties théoriques et la commodité pratique que l'on était en droit d'attendre d'une réaction destinée à être utilisée couramment au laboratoire et à être associée de façon étroite, pour l'épidémiologie et surtout pour le diagnostic, à la technique cinétique de séro-neutralisation.

RÉSUMÉ.

La technique de séro-identification rapide des virus poliomyélitiques dans les selles assure l'isolement dès que la concentration de virus atteint 1 DCT₅₀ pour 67 mg et permet le typage avec 1 DCT₅₀ pour 6,7 mg.

La quantité de cellules choisies a été adaptée aux nécessités de l'isolement et permet l'observation des cultures pendant dix jours sans altération cellulaire non spécifique : le typage sérologique obligatoirement acquis avant le cinquième jour est ainsi réalisé pendant la phase exponentielle de croissance tandis que l'isolement peut se poursuivre pendant la phase consécutive de survie.

L'identification sérologique proprement dite est effectuée dans un système à virus constant (mais de concentration inconnue) sérum constant, en présence d'un excès d'anticorps, la concentration utilisée pour les sérums de référence étant fixée de façon à assurer la neutralisation de toutes les concentrations possibles de virus.

SUMMARY

TECHNIQUE OF RAPID SERO-IDENTIFICATION OF POLIOVIRUSES
IN STOOLS.

II. — THEORETICAL STUDIES.

The technique described by the authors allows the isolation of the viruses as soon as the virus concentration reaches 1 TCD₅₀ in 67 mg, and makes possible the typing with 1 TCD₅₀ in 6,7 mg. A given amount of cells is used and adapted to the isolation. The cultures can then be observed for ten days without showing non specific alterations. Serological typing, which should be performed before the fifth day, is therefore carried out during the exponential growth phase, whereas the isolation may be carried out during the following survival phase.

The actual serological identification is made by means of a system of constant amount of virus (but unknown concentration)

and constant serum, in the presence of an excess of antibody, the concentration used for standard immune sera always being high enough to ensure neutralization at any virus concentration.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] CLARKE (S. K. R.) et TYRRELL (D. A. J.). *Arch. ges. Virusforsch.*, 1958, **8**, 453-468.
 - [2] DULBECCO (R.), VOGT (M.) et STRICKLAND (A. G. R.). *Virology*, 1956, **2**, 162-205.
 - [3] MANDEL (B.). *Virology*, 1960, **83**, 515-527.
 - [4] TYRELL (D. A.) et HORSFALL (F. L.). *J. exp. Med.*, 1953, **97**, 845-861.
-

INFLUENCE, SUR LA VIRULENCE ET LES CARACTÈRES ANTIGÉNIQUES DU VIRUS DE LA POLIOMYÉLITE DE TYPE I, DE LA CULTURE PROLONGÉE *IN VITRO* SUR CELLULES RÉNALES DE SINGE

par V. D. SOLOVIEV et B. F. SEMENOV (*).

(*Institut Moscovite de Prophylaxie des Maladies Virales,
Moscou, U. R. S. S.*)

Les travaux de ces dernières années ont accumulé de nombreux faits qui témoignent de la grande variabilité du virus de la poliomyélite. Il a été ainsi établi que des changements dans les conditions de culture du virus, tels que l'adaptation aux rongeurs ou à la reproduction *in vitro* dans les tissus extra-nerveux, l'emploi de milieux nutritifs de différentes compositions, l'action d'une série de substances, et entre autres celle de la proflavine, entraînent diverses mutations du virus de la poliomyélite (Moyer, Accorty et Cox [8], Sabin [9], Li [6], Dulbecco et Vogt [3]).

On a ainsi obtenu des souches caractérisées par l'absence presque totale de virulence vis-à-vis de telle espèce de primates ou par une sensibilité modifiée à l'égard de la cystéine, de la température, des inhibiteurs du sérum bovin normal, etc. (Sabin [10], Dubes et Chapin [1], Dubes et Sabin [2], Takemori et coll. [11], Litchfield et Fertig [7]). Toutefois, on ne sait pas au juste quelle est l'influence exercée par un passage prolongé en culture de tissus sur les propriétés antigéniques de l'agent de la poliomyélite, ni si l'affaiblissement de la virulence s'accompagne de modifications du pouvoir antigénique du virus. Nous avons essayé dans nos travaux de répondre à ces questions.

MATÉRIEL ET MÉTHODES DE RECHERCHE.

Nous avons utilisé dans nos expériences le virus de la poliomyélite du type I, souche IP.1342. Cette souche a été isolée en culture de tissus à partir d'un malade atteint de poliomyélite paralytique de gravité moyenne. Par passages rapides dans une cul-

(*) Manuscrit reçu le 20 janvier 1961.

ture d'épithélium rénal, Lépine [5] a obtenu une variante de la souche IP 1342 qui, inoculée à des singes de l'espèce *Cynocephalus babuin*, ne provoquait la maladie ni par voies intracérébrale et intraspinale, ni par voie intramusculaire ou sous-cutanée.

Les 55^e et 90^e passages de la souche IP 1342 furent remis en 1958 à l'Institut de Prophylaxie de la Poliomyélite de Moscou. Le virus obtenu a été passé une seule fois en culture sur couche monocellulaire de cellules rénales de singe *Macacus rhesus*, et les liquides virulents recueillis furent conservés par la suite à la température de — 30°.

L'étude de la virulence de la souche IP 1342 a été pratiquée sur des singes (*Macacus rhesus*) provenant de Chine et de l'Inde, dont le poids variait entre 2,0 et 2,65 kg. Les animaux, placés sous anesthésie générale à l'évipan sodique, recevaient 0,5 ml de liquide virulent dans chacune des régions thalamiques optiques lorsque l'infection était pratiquée par la voie intracérébrale, ou 0,5 ml de matériel infectieux dans le rachis lombaire s'il s'agissait de contamination intraspinale. Les singes restaient sous observation pendant une durée de trois semaines. Dès l'apparition de signes cliniques évidents de poliomyélite se manifestant par des paralysies des extrémités, les animaux étaient sacrifiés. Aussi bien pour les animaux demeurés sains que pour ceux atteints de poliomyélite clinique, il a été procédé à un examen histologique détaillé du système nerveux central, et dans la plupart des cas à des recherches virologiques.

Pour isoler les virus et pour les titrer, de même que pour leur identification, on employait les cultures en couche monocellulaire de cellules rénales de *M. rhesus*.

L'activité antigénique des virus était déterminée par des expériences portant sur des cobayes et sur des poussins. Pour cela, les cobayes recevaient par voie sous-cutanée, les poussins par voie intramusculaire, 1 ml des liquides virulents dilués à raison 10. Une semaine après cette inoculation, on prélevait le sang des animaux pour la recherche de la teneur en anticorps neutralisant le virus poliomyélitique.

La réaction de neutralisation était effectuée d'après le schéma suivant. Le sérum total inactivé d'un des animaux d'expérience était mélangé avec un volume égal d'une suspension de virus renfermant 200 doses tissulaires cytopathogènes (DCT₅₀) dans 0,1 ml. Après incubation d'une heure, on introduisait 0,1 ml de ce mélange dans des tubes renfermant une couche monocellulaire de cellules sensibles au virus. Chaque mélange était ainsi inoculé dans deux tubes au moins. Les lectures finales étaient faites au septième jour. Quand nous n'observions de modifications cytopathogènes que dans un seul des deux tubes inoculés, nous esti-

mions que le sérum étudié contenait des anticorps. L'activité antigénique des souches étudiées était exprimée en termes d'unité Un_{50} , c'est-à-dire représentant la dose dont l'introduction est suivie de l'apparition d'anticorps chez 50 p. 100 des animaux. L' Un_{50} était calculée par la méthode des probits modifiée de Litchfield et Fertig [7].

Les prélèvements du système nerveux central des singes destinés à l'examen histopathologique étaient fixés dans une solution de formol neutre à 10 p. 100. Les préparations étaient colorées à l'hématoxyline-éosine ou selon la méthode de Nissl.

RÉSULTATS.

Le 55° passage aussi bien que le 90° passage de la souche IP 1342 se sont montrés, dans nos expériences, virulents pour

TABLEAU I. — Virulence comparée pour le singe *Macacus rhesus* des passages 55 et 90 de la souche IP 1342.

| Souche IP-1342 | Doses ($DOCT_{50}$ par ml) | Mode d'infection | | | |
|-------------------|--------------------------------|---------------------|---------|-------------------|---------|
| | | voie intracérébrale | | voie intraspinale | |
| | | Paralysies | Lésions | Paralysies | Lésions |
| 55° passage | 4.800.000 | 1/4 * | 4/4 ** | 3/3 | 3/3 |
| | 480.000 | 0/2 | 2/2 | 4/4 | 4/4 |
| | 48.000 | 2/3 | 3/3 | 4/4 | 4/4 |
| | 4.800 | " | " | 3/3 | 3/3 |
| | 480 | — | — | 2/2 | 2/2 |
| | 48 | — | — | 3/3 | 3/3 |
| | 4,8 | — | — | 1/3 | 1/3 |
| | 0,48 | — | — | 0/3 | 0/3 |
| 90° passage | 10.000.000 | 0/2 | 2/2 | 2/2 | 2/2 |
| | 1.000.000 | 0/2 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | 100.000 | — | — | 2/2 | 2/2 |
| | 10.000 | — | — | 2/2 | 2/2 |
| | 1.000 | — | — | 2/2 | 2/2 |
| | 100 | — | — | 0/2 | 1/2 |

* Infection intracérébrale : 0,5 ml dans chaque hémisphère. Infection intraspinale : 0,5 ml dans le IV^e espace intervertébral.

** Numérateur : nombre d'animaux ayant présenté des paralysies (ou des lésions histologiques) ; dénominateur : nombre des animaux inoculés.

les singes de l'espèce *Macacus rhesus*. Toutefois, comme le montrent les résultats figurant au tableau I, l'activité paralyto-gène ne revêtait pas le même degré à ces différents niveaux de passages.

Au 55^e passage la souche IP 1342 se montre nettement virulente pour les singes inoculés par la voie intracérébrale ou intraspinale. Trois animaux sur neuf sont tombés malades après l'inoculation intracérébrale de fortes doses de virus (de 4 800 000 à 48 000 DCT₅₀) et l'examen histopathologique du système nerveux central des animaux demeurés cliniquement sains durant les trois semaines d'observation a décelé, dans tous les cas sans exception, des modifications morphologiques typiques de lésions causées par le virus poliomyélitique.

L'épreuve intraspinale pratiquée avec le 55^e passage de la souche IP 1342 consistait à introduire chez les singes de 4 800 000 à 0,48 DCT₅₀. On a observé l'apparition d'une poliomyélite paralytique chez les macaques même lorsqu'ils étaient infectés par des doses très faibles de virus. Il convient de souligner que tous les diagnostics cliniques de poliomyélite paralytique ont été confirmés par l'examen histopathologique et, dans de nombreux cas, par l'identification du virus de la poliomyélite du type I dans les tissus de la moelle lombaire des singes.

L'épreuve pratiquée sur les singes (*M. rhesus*) avec la souche IP 1342 après son 90^e passage offre un tableau totalement différent. Ce virus modifié introduit par la voie intracérébrale ne provoquait pas la maladie, même si l'on inoculait dans les thalami optiques jusqu'à 10 000 000 de DCT₅₀. L'examen histologique du cerveau et de la moelle rachidienne des animaux sacrifiés trois semaines après leur contamination a décelé dans trois cas seulement des foyers limités de neuronophagie dans la région sous-corticale. On n'a découvert de signes d'infection poliomyélitique chez aucun des singes.

L'inoculation des singes par introduction de la souche IP 1342 dans le rachis lombaire prouve avec évidence la diminution de sa virulence après son 90^e passage en culture tissulaire. Pour produire, dans ces conditions, l'apparition de symptômes cliniques traduisant la lésion des neurones moteurs, il est nécessaire d'introduire au moins 1 000 DCT₅₀. Autrement dit, le 90^e passage de la souche éprouvé par la voie intraspinale s'est montré 200 fois moins virulent que le 55^e passage.

Le résultat de la confrontation des propriétés antigéniques de ces deux niveaux d'atténuation de la souche IP 1342 est consigné dans le tableau II. Ce tableau rapporte également les données concernant l'activité antigénique de la souche Brunden employée par l'Institut de Prophylaxie de la Poliomyélite de Moscou pour la préparation d'un vaccin inactivé selon la méthode de Salk.

Les valeurs du facteur Un₅₀ obtenues dans nos expériences indiquent, sans qu'une analyse statistique détaillée soit nécessaire, que le potentiel antigénique de la souche IP 1342 et celui de la

souche Brunden sont d'un même ordre de valeur. Dans les expériences sur cobayes, nous avons constaté la formation d'anticorps chez 50 p. 100 des animaux après l'introduction d'environ 1 000 DCT₅₀ aussi bien de l'une des souches que de l'autre. La dose de 10 000 DCT₀₅ suffisait à provoquer une réponse sérologique chez la moitié des poussins soumis à l'épreuve.

TABLEAU II. — Résultats de l'essai antigénique des différentes souches poliomyélitiques sur cobaye et sur poussin.

| Souche | Essai sur Cobaye | | Essai sur poussin | |
|--------------------------|----------------------|-------------|----------------------|------------|
| | -logED ₅₀ | B | -logED ₅₀ | B |
| BRUNDEN | 3,0 ± 0,29 | 1,22 ± 0,35 | 4,2 ± 0,35 | 1,0 ± 0,47 |
| IP-1342 (55° passage) | 2,9 ± 0,58 | 1,0 ± 0,37 | - | - |
| IP-1342 (90° passage) | 3,0 ± 0,39 | 0,9 ± 0,27 | 4,0 ± 0,45 | 0,9 ± 0,43 |

On sait que la comparaison des différentes Un₅₀ n'est justifiée qu'en cas de réaction similaire des animaux à l'introduction des agents étudiés. Nous avons, de ce point de vue, pratiqué la comparaison des coefficients de régression pour établir si leurs différences étaient statistiquement valables et significatives. La comparaison statistique étant établie d'après le T-test, le niveau de signification de l'expérience était de 0,05. La confrontation des valeurs obtenues de T et des valeurs affectées à T dans les tableaux de Fisher et Yates [4] a montré que les différences entre les coefficients de régression ne sortent pas du cadre des erreurs normales de l'expérience. Il en ressort que les valeurs de Un₅₀ soumises à la comparaison sont obtenues sur des groupes d'animaux donnant une réaction similaire à l'introduction du virus vivant de la poliomyélite du type I, qu'il appartienne à la souche IP 1342 ou à la souche Brunden.

DISCUSSION.

Les résultats rapportés dans ce travail démontrent indubitablement qu'au cours de passages sur des cultures en couche monocellulaire de cellules rénales de singe *C. babuin*, la souche IP 1342, inoculée par voie intracérébrale, perd sa virulence vis-à-vis des singes de l'espèce *Macacus rhesus* et devient beaucoup moins pathogène (200 fois moins environ) après introduction du

virus par voie intraspinale. Si l'on confronte nos données et les résultats obtenus à l'Institut Pasteur par l'étude, sur des singes d'espèce *C. babuin*, de la souche IP 1342 après son 5^e passage, on remarque que les singes africains et les singes asiatiques n'ont pas la même sensibilité à l'égard de la poliomyélite. Les singes africains se montrent beaucoup moins réceptifs que *Macacus rhesus*, que le virus soit introduit par la voie intracérébrale ou par la voie intrarachidienne.

Nos données apportent donc un argument de plus à l'hypothèse selon laquelle les diverses espèces de singes possèdent une réceptivité différente au virus de la poliomyélite.

Il a été établi, en outre, que le passage prolongé de la souche IP 1342 en culture tissulaire monocellulaire ne modifiait pas son pouvoir antigénique. Comme le montrent les expériences sur cobayes et sur poussins, sa valeur demeure égale à celle de la souche Brunden largement utilisée en Angleterre, en U. R. S. S. et dans de nombreux autres pays pour la production du vaccin antipoliomyélique inactivé.

Nos données indiquent dans leur ensemble que la modification des propriétés virulentes du virus de la poliomyélite au cours des passages en culture d'épithélium rénal n'est pas accompagnée d'une diminution de son activité antigénique.

CONCLUSIONS.

1. Nos travaux démontrent que les passages sur des cellules d'épithélium de rein de singe appartenant à l'espèce *Cynocephalus babuin* d'une souche du virus de la poliomyélite du type I (souche IP 1342) s'accompagnent d'une modification de la virulence pour les singes de l'espèce *Macacus rhesus*.

2. Nos travaux démontrent également que les modifications de la virulence du virus sous l'effet d'une culture prolongée *in vitro* n'entraînent pas de diminution de son activité antigénique.

SUMMARY

EFFECT OF PROLONGED CULTURES ON MONKEY KIDNEY CELLS ON VIRULENCE AND ANTIGENIC PROPERTIES OF POLIOVIRUS TYPE I.

The experiments yielded the following results :

1. Passages of poliovirus type I (strain IP 1342) on monkey kidney cells of *Cynocephalus babuin* induce a modification of the virulence for *Macacus rhesus* monkeys.

2. This modification is not accompanied by a decrease of the antigenic activity of the virus.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] DUBES (G. R.) and CHAPIN (M.). *J. gen. Microbiol.* 1958, **18**, 320-329.
 - [2] DUBES (G. R.) and SABIN (A. B.). *Science*, 1956, **124**, 586-587.
 - [3] DULBECCO (R.) and VOGT (M.). *Virology*, 1958, **5**, 236-243.
 - [4] FISHER (R. A.) and YATES (F.). *Statistical tables for biological, agricultural and medical research*. Hafner, édit., New York, 1953.
 - [5] LÉPINE (P.). *Revue lyon. Méd.*, 1956, **5**, 33.
 - [6] LI (C. P.). *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1957, **96**, 354-359.
 - [7] LITCHFIELD (J. T. Jr) and FERTIG (J. W.), *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1941, **69**, 276-286.
 - [8] MOYER (A. W.), ACCORTY (C.) and COX (H. R.). *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1952, **81**, 519.
 - [9] SABIN (A. B.). *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1955, **61**, 924-939.
 - [10] SABIN (A. B.). *J. Amer. med. Ass.*, 1956, **162**, 1589-1596.
 - [11] TAKEMORI et coll. *Virology*, 1958, **5**, 30-55.
-

SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE

(Institut Pasteur, 25, rue du Docteur-Roux, Paris, 15^e)

Séance du 13 avril 1961.

Présidence de M. Robert FASQUELLE.

COMMUNICATIONS

UNE NOUVELLE ESPÈCE DE *SALMONELLA* EN PROVENANCE DU CONGO : *SALMONELLA KIVU* (6,7:d:1,6)

par E. VAN OYE, G. VAN ROS et F. HERMAN.

(Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie, Bruxelles
[Directeur : D^r A. LAFONTAINE],
et Laboratoire médical provincial de Bukavu, Congo
[Directeur : D^r G. VAN ROS])

La nouvelle espèce de *Salmonella* qui sera décrite dans cette note a été isolée par coproculture, en mai 1960, chez un Congolais adulte. Les raisons cliniques pour lesquelles l'examen coprologique a été demandé ne nous sont pas connues.

Les germes, qui sont mobiles, possèdent les propriétés biochimiques suivantes : ils fermentent (dans les vingt-quatre heures et avec production de gaz) l'arabinose, le glucose, l'inosite, le maltose, la mannite, le rhamnose, la sorbite, le tréhalose et le xylose. *La salicine est attaquée après quarante-huit heures*. L'adonite, la dulcité, le lactose et le sucrose ne sont pas fermentés. *Il y a production d'indole après trente-six à quarante-huit heures*. Il n'y a pas d'hydrolyse de l'urée. Le test de Henricksen (phénylalanine) et celui de Leifson (malonate) sont négatifs. La production de H₂S est très abondante. Les nitrates sont réduits en nitrites. La réaction de Voges-Proskauer est négative, celle au rouge de méthyle est positive. Les résultats suivants ont été observés dans les milieux contenant des acides organiques : D-tartrate —¹⁴, L-tratrate +¹, L-tartrate —¹⁴, citrate +¹ et mucate +¹. La gélatine n'est pas liquéfiée.

La culture ne se développe pas en milieu contenant du KCN. Elle dégage une odeur désagréable.

Ces propriétés biochimiques posent le problème de savoir s'il est permis de considérer ce germe comme appartenant au groupe *Salmonella*. En effet, il est indologène et attaque la salicine ; en outre, la culture est malodorante. Le germe est néanmoins plus proche du groupe *Salmonella* que des autres groupes des Entérobactéries, y compris les *Arizona*. Si les réactions biochimiques aberrantes ne permettent pas de le ranger sans restriction dans l'un ou l'autre groupe, ses caractéristiques générales sont celles des *Salmonellae*.

Les agglutinations sur lames ont donné des résultats positifs avec les sérums anti-O : 6,7 et O : 6,8 non-absorbés, ainsi qu'avec le sérum anti-O : 7 pur. Par ailleurs, nous avons préparé des sérums anti-O avec la culture en cause et avec une culture de *S. infantis*. Les agglutinations avant et après absorptions croisées nous ont montré que les antigènes somatiques sont pratiquement identiques ; après les absorptions croisées, il ne reste plus que des traces d'agglutinines dans les sérums homologues.

L'antigène flagellaire de la phase 1 est agglutiné par le sérum anti-H : d à l'exclusion de tout autre. L'antigène flagellaire de la phase 2 est agglutiné par les sérums non-absorbés anti-H : 1,2, 1,5, 1,6, 1,7, ainsi que par le sérum anti-H : 6 pur.

La formule antigénique est donc = 6,7 : d : 1,6.

Ainsi, d'une part nous voyons que, malgré ses propriétés biochimiques non conformes, il n'est pas possible de classer ce germe ailleurs que dans le groupe *Salmonella* ; d'autre part, nous voyons que sa structure antigénique est entièrement celle d'un germe qui, normalement, doit trouver sa place dans le schéma de Kauffmann-White. Pour ces raisons, nous avons décidé de le considérer comme une *Salmonella*. Cette décision a reçu l'accord des D^{rs} Kauffmann et Edwards.

Le nom de *Salmonella kivu* a été proposé et accepté.

RÉSUMÉ. — Description d'une nouvelle espèce de *Salmonella* (*S. kivu* = 6,7 : d : 1,6) isolée par une coproculture chez un Congolais adulte. La culture présente certains caractères biochimiques non conformes.

SUMMARY

A NEW SPECIES OF *Salmonella* ISOLATED IN CONGO : *Salmonella kivu*
(6,7 : d : 1,6).

Description of a new *Salmonella* species (*S. kivu* = 6,7 : d : 1,6) isolated from the stool of an adult native from the Congo. The culture shows some non conform biochemical properties.

★ ★

Nous tenons à remercier le professeur F. Kauffmann, directeur du Centre International des *Salmonellae* à Copenhague, de l'aide qu'il nous a apportée dans l'étude de cette souche.

ACTION DU JEÛNE ET DE LA CORTISONE SUR LA SENSIBILITÉ DE LA SOURIS A L'INFECTION STAPHYLOCOCCIQUE

UTILISATION EN CHIMIOTHÉRAPIE

par F. BOYER et A. LAMENSANS.

(Institut Pasteur, Service de Chimie Thérapeutique B)

La recherche de substances chimiothérapeutiques actives sur l'infection staphylococcique expérimentale de la souris est difficile du fait de la faible virulence des diverses souches utilisées. En raison de cette faible virulence, il faut inoculer un grand nombre de germes pour obtenir la mort des souris, et, dans de telles conditions, peu de substances se révèlent actives, quel que soit du reste le germe en cause (Nitti et Bovet [4]).

Un certain nombre de procédés ont été utilisés pour obtenir une infection rapidement mortelle en inoculant un petit nombre de staphylocoques.

a) L'enrobage des germes avec de la mucine est couramment utilisé. Par exemple, pour tuer 100 p. 100 des souris avec la souche 133 de *Staphylococcus aureus*, il faut inoculer par voie intrapéritonéale 0,25 cm³ de culture pure, mais il suffit d'injecter 10—5 cm³ de culture lorsque les germes sont enrobés de mucine. Malheureusement, l'emploi de la mucine comporte des inconvénients : la préparation des suspensions infectantes est délicate, le produit choque les animaux, les caractères des lésions primaires sont artificiels, enfin les infections intercurrentes exaltées par la mucine sont fréquentes.

b) L'inoculation de staphylocoques par voie intraveineuse suivie de la numération des germes dans les reins de souris constitue un excellent moyen pour évaluer expérimentalement une action antistaphylococcique (Chabbert [2]). Cette technique nécessite beaucoup de travail et de matériel. Ce procédé, dont l'emploi est justifié lorsqu'il s'agit d'étudier de façon précise une substance que l'on sait active, est peu rentable pour un travail de dépistage.

Nous avons donc cherché un procédé simple et efficace permettant d'obtenir la mort des animaux dans un temps assez court et comportant l'inoculation d'un nombre de germes suffisamment petit pour être compatible avec une réponse de la chimiothérapie.

On sait que la cortisone exerce une action défavorable sur la survie au cours de diverses infections expérimentales, dont la staphylococcie (Boyer et Chedid [1]). D'autre part, Dubos [3] a montré qu'un jeûne

prolongé était susceptible de diminuer la résistance des souris à la tuberculose expérimentale. Nous avons étudié l'action de ces deux facteurs utilisés isolément ou ensemble dans l'infection staphylococcique expérimentale de la souris.

TECHNIQUES. — *Germe.* — *Staphylococcus aureus*, souche 133, cultivé en bouillon de Nitti (1).

Inoculation. — Des dilutions dans l'eau physiologique d'une culture de 6 heures à 37° sont injectées par voie intraveineuse sous un volume de 0,25 cm³.

Traitements. — a) Cortisone : des doses diverses d'une suspension d'acétate de cortisone sont injectées par voie sous-cutanée à des moments différents avant l'infection.

b) Jeûne : les animaux qui, normalement, reçoivent une provende vitaminée et de l'eau *ad libitum* sont privés de toute nourriture et de boisson pendant les trente heures qui précèdent l'inoculation.

Chimiothérapie. — La chimiothérapie est commencée immédiatement après l'inoculation.

a) *p*-aminophényl-sulfamide : 1162F. Un gavage à la sonde œsophagienne avec 10 mg de 1162F par jour pendant deux jours. Le 1162F est administré en suspension dans l'eau gélosée à 1 p. 1 000 (0,5 cm³ par gavage).

b) Pénicilline G, sel de sodium : injections sous-cutanées de 100 unités dans 0,5 cm³ d'eau physiologique, une injection matin et soir pendant deux jours.

Chaque groupe de traitement comporte 10 animaux de même souche (Swiss), sexe (mâle) et âge (8 semaines environ), d'un poids de 18 à 22 g.

Les résultats sont évalués par les temps de survie des animaux des différents groupes. Tout animal qui meurt est autopsié et soumis à un contrôle bactériologique. On retrouve quelques staphylocoques dans le sang du cœur et de nombreux abcès dans les deux reins.

RÉSULTATS. — 1° *Traitement par la cortisone seule.* — Le tableau I montre que :

a) La cortisone augmente nettement la sensibilité de la souris à l'infection staphylococcique.

b) L'injection de 1 mg de cortisone permet d'obtenir la mort de 100 p. 100 des animaux après l'inoculation de 10⁻³ cm³ de culture.

2° *Action du jeûne.* — Le tableau II montre que les souris soumises à un jeûne complet pendant les trente heures qui précèdent l'inoculation sont au moins dix fois plus sensibles à l'infection que les témoins.

(1) Macération de viande, 1 l ; peptone Vaillant 5B, 50 g ; phosphate disodique, 6 g ; ClNa, 3 g. Chauffer pendant vingt minutes à 120°, filtrer, ajouter 10 g de glucose, ajuster à pH 7,2.

c) Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque la cortisone est injectée dans les vingt-quatre heures qui précèdent l'inoculation, en une ou deux injections.

3° *Traitement par la cortisone et un jeûne simultanés.* — Le tableau III (a) montre que les souris privées de nourriture et soumises à une injection de cortisone sont au moins cent fois plus sensibles à l'infection staphylococcique que les souris témoins. On remarque que, dans les conditions expérimentales, la mortalité est de 100 p. 100 en quatre jours chez les souris inoculées avec 10^{-4} cm³.

TABEAU I. — Inoculation : 10^{-3} cm³ de culture pure de 6 heures.

| TRAITEMENT | DOSE PAR INJECTION EN MG | DOSE TOTALE EN MG | TEMPS DU TRAITEMENT AVANT L'INOCULATION | NOMBRE D'ANIMAUX VIVANTS | | | | | | |
|--|--------------------------|-------------------|---|--------------------------|----|---|---|---|---|---|
| | | | | jours | | | | | | |
| | | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Témoins (eau physiologique 0,5 cm ³) | | | 24 et 6 h | 10 | 10 | 9 | 7 | 6 | 6 | 6 |
| Cortisone | 0,125 | 0,250 | 24 et 6 h | 10 | 10 | 8 | 7 | 6 | 6 | 5 |
| Cortisone | 0,250 | 0,500 | 24 et 6 h | 10 | 10 | 8 | 7 | 5 | 4 | 3 |
| Cortisone | 0,500 | 1 | 24 et 6 h | 10 | 8 | 8 | 2 | 0 | | |
| Cortisone | 1 | 2 | 24 et 6 h | 10 | 5 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Cortisone | 1 | 1 | 24 h | 10 | 6 | 2 | 1 | 0 | | |
| Cortisone | 1 | 1 | 48 h | 10 | 8 | 5 | 4 | 2 | 0 | |
| Cortisone | 1 | 1 | 72 h | 9 | 9 | 7 | 6 | 6 | 5 | 5 |

TABEAU II.

| TRAITEMENT AVANT L'INOCULATION | INOCULATION EN CM ³ | TRAITEMENT APRÈS L'INOCULATION | NOMBRE D'ANIMAUX VIVANTS | | | | | | |
|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------|----|----|----|----|---|---|
| | | | jours | | | | | | |
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| O (témoins) .. | 10^{-3} | o | 10 | 10 | 10 | 9 | 8 | 7 | 7 |
| Jeûne | 10^{-3} | o | 10 | 10 | 7 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Jeûne | 10^{-4} | o | 10 | 10 | 9 | 6 | 5 | 4 | 4 |
| Jeûne | 10^{-3} | 1162 F | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 | 9 | 9 |
| Jeûne | 10^{-3} | pénicilline G | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 8 |

4° *Réponse à la chimiothérapie.* — Les tableaux II et III (a) montrent que l'action d'une substance bactériostatique (sulfamide), ou celle d'un antibiotique bactéricide (pénicilline), est nettement mise en évidence.

Les résultats thérapeutiques obtenus chez les souris à jeûn et traitées à la cortisone sont même meilleurs que ceux obtenus chez les souris infectées par des germes enrobés de mucine [tableau III (b)].

TABLEAU III.

| TRAITEMENT AVANT INOCULATION | INOCULA- TION EN CM ³ | TRAITEMENT THÉRAPEUTIQUE AVANT L'INOCULATION | NOMBRE D'ANIMAUX VIVANTS | | | | | | | | | |
|------------------------------------|--|---|--------------------------|----|----|----|---|---|---|---|---|----|
| | | | jours | | | | | | | | | |
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| (a) o | 10 ⁻² | o | 10 | 9 | 4 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| o | 10 ⁻³ | o | 10 | 10 | 10 | 9 | 7 | 6 | 6 | 5 | 5 | 5 |
| o | 10 ⁻⁴ | o | 10 | 10 | 10 | 8 | 8 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Jeûne + cortisone | 10 ⁻⁴ | o | 10 | 6 | 3 | 0 | | | | | | |
| Jeûne + cortisone | 10 ⁻⁴ | 1162 F | 10 | 10 | 7 | 5 | 4 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Jeûne + cortisone | 10 ⁻⁴ | pénicilline | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 8 | 6 | 5 | 4 | 4 |
| Jeûne + cortisone | 10 ⁻⁵ | o | 10 | 9 | 6 | 5 | 5 | 3 | 3 | 3 | 3 | 1 |
| Jeûne + cortisone | 10 ⁻⁵ | 1162 F | 10 | 10 | 10 | 9 | 7 | 7 | 7 | 6 | 6 | 6 |
| (b) o | 10 ⁻⁵ | o | o | | | | | | | | | |
| o | 10 ⁻⁵ | 1162 F | 10 | 8 | 6 | 3 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| o | 10 ⁻⁵ | pénicilline | 10 | 7 | 6 | 5 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |

CONCLUSIONS ET RÉSUMÉ. — Il est assez difficile de réaliser chez la souris une infection à staphylocoques permettant de déceler aisément une activité chimiothérapique. L'inoculation de germes enrobés de mucine, couramment utilisée, n'est pas exempte d'inconvénients. Les expériences rapportées ici démontrent que chez les souris inoculées par voie intraveineuse avec une culture de staphylocoques et soumises à un jeûne prolongé et à un traitement par la cortisone, la mort survient dans un temps relativement court ; dans ces conditions, les animaux peuvent répondre favorablement à un traitement chimiothérapique. Cette technique très simple est facile à utiliser pour le dépistage des substances antistaphylococciques.

SUMMARY

ACTION OF FASTING AND CORTISONE ON MICE SUSCEPTIBILITY TO STAPHYLOCOCCAL INFECTION. APPLICATION TO CHEMOTHERAPY.

It is rather difficult to realize a staphylococcal infection in mice, allowing the easy demonstration of a chemotherapeutic activity. The inoculation of germs coated with mucine presents certain drawbacks. The experiments described show that mice intravenously inoculated with a culture of *Staphylococcus* and subjected to prolonged fasting and to a treatment with cortisone, die within a relatively short time ; in these conditions, the animals may react favorably to chemotherapeutic treatment.

This technique is very simple and easy to carry out for the assay of anti-staphylococcal substances.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BOYER (F.) et CHEDID (L.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1953, **84**, 453.
[2] CHABBERT (Y.), BOYER (F.), SAVIARD (M.), BOULINGRE (H.) et HERVÉ (J.).
Ann. Inst. Pasteur, 1957, **92**, 760.
[3] DUBOS (R. J.). *J. exp. Med.*, 1955, **101**, 59.
[4] NITTI (F.) et BOVER (D.). *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **131**, 588.
-

ÉTUDE DE LA PROPRIÉTÉ BACTÉRIOCINOGENÈ DANS LE GENRE *SERRATIA*

par Yves HAMON et Yvonne PÉRON.

(Institut Pasteur, Service des Bactériophages)

Les *Serratia* étant classées par Kauffmann (1958) parmi les *Enterobacteriaceae*, nous nous sommes proposé de rechercher l'existence du pouvoir bactériocinogène dans ce genre. Dans ce dessein, nous avons utilisé 85 souches de *Serratia* [*S. marcescens*, 80 ; *S. plymuthicum*, 2 ; *S. indica*, 2 ; *S. kilensis*, 1] (1). En utilisant 24 souches révélatrices appartenant à ce genre, nous avons observé par la technique de Gratia [2], un antagonisme discret provoqué par 32 des souches étudiées. Nous avons poursuivi cette recherche en exposant les cultures précédentes, en phase exponentielle de croissance, à une dose convenable d'U. V. (Jacob et coll. [4]) : 41 souches, qui n'exerçaient aucune action par la technique de Gratia, se sont révélées antagonistes par cette méthode.

Le nombre des cultures inhibitrices s'élève donc au total à 73, soit 86 p. 100 du nombre des souches étudiées ; à notre avis, une incidence encore plus élevée de souches actives doit être observée en n'étudiant que des souches récemment isolées et en employant un lot plus important de cultures révélatrices. Parmi ces dernières, certaines se montrent très sensibles à la plupart des principes inhibiteurs (*S. kilensis* n° 18-60, *S. plymuthicum* n° 17-60 et *S. marcescens* n° 10-60). Chaque préparation inhibitrice s'individualise généralement par son spectre d'activité. Cependant, un nombre élevé d'entre elles étant constitué par un mélange de plusieurs principes antagonistes, seule une analyse plus précise permettra ultérieurement de préciser le nombre de principes inhibiteurs en cause.

(1) Ces souches nous ont été transmises par MM. Le Minor et Véron, auxquels nous adressons nos sincères remerciements.

Les zones d'inhibition ne sont pas produites par le pouvoir lysogène des cultures, les principes incriminés n'étant pas transmissibles en série (absence de plages aux dilutions limites). Cependant, il existe probablement de nombreuses souches lysogènes de *Serratia* ; en effet, bien que la mise en évidence du pouvoir lysogène éventuel soit masquée par l'action des substances inhibitrices, nous avons réussi à isoler plusieurs bactériophages de lysogénéité, notamment ceux qui sont produits par les souches 863-57, 29-60 et 874-57 dont les propriétés lysogènes sont inductibles par les U. V. ; régénérés, ces phages forment des plaques de lyse plus ou moins voilés très différents des zones d'inhibition provoquées par les substances antagonistes qui sont nettes et dépourvues presque totalement de culture secondaire.

L'antagonisme observé est dû à la production des substances antibiotiques qui possèdent les propriétés générales des bactériocines : a) ces substances ont une structure particulière et une activité létale, comme le démontre l'examen des courbes de survie des bactéries soumises à l'action des diverses dilutions de ces principes ; b) elles sont généralement thermolabiles (inactivation par un chauffage à 70° C, parfois même à 60° C pendant trente minutes) ; c) l'inactivation fréquente de ces antibiotiques par le chloroforme et la résistance habituelle des *Serratia* à la streptomycine et à la polymyxine B [3] compliquent, pour ces préparations, le problème de la stérilisation indispensable à la mise en évidence et au titrage de leur activité antagoniste. Cependant, la néomycine (200 µg/ml), active sur la majorité des souches productrices, nous a permis de résoudre ce problème, les rares souches résistantes à la néomycine étant traitées par le thymol (les préparations stérilisées par la néomycine sont titrées sur la souche n° 17-60 rendue résistante à 200 µg de néomycine par ml) ; d) la majorité de ces préparations antibiotiques sont actives non seulement sur certaines souches de *Serratia*, mais également sur les souches B et K12 S d'*E. coli*, révélatrices des colicines. Traitées par la trypsine, 12 de ces préparations perdent leur activité sur les souches B et K12 mais restent actives sur les souches de *Serratia* (deux exceptions : la souche 17-60 de *S. plymuthicum* et la souche 18-60 de *S. kilensis* produisent un antibiotique qui résiste à la trypsine et agit sur K12 S) ; cette constatation démontre la production d'au moins deux bactériocines différentes par les souches étudiées : la fraction antibiotique qui est sensible à la trypsine, agit nettement sur les *E. coli*, mais faiblement (ou pas du tout) sur les souches sensibles de *Serratia* comme le prouvent l'étude de sept préparations récentes dans lesquelles nous n'avons pu mettre en évidence qu'une fraction antibiotique active sur *E. coli* et sensible à la trypsine, ainsi que l'étude de quelques préparations anciennes dans lesquelles n'avait subsisté que la fraction antibiotique sensible à la trypsine ; au contraire, la fraction antibiotique qui résiste à la trypsine, n'agit habituellement que sur les *Serratia* (8 souches n'élaborent, d'ailleurs, que cette seule fraction antibiotique). Bien que les *Serratia* produisent des enzymes protéolytiques susceptibles d'inactiver certaines de leurs bactériocines, en pratique la recherche de ces antibiotiques n'est pas entravée lorsqu'on induit leur formation par les U. V. Cependant, dans les préparations obtenues par simple culture en eau peptonée de souches récemment isolées, on observe par-

fois une inactivation partielle ou totale de la (ou des) bactériocines sensibles à la trypsine. Il est vraisemblable que chez d'autres espèces protéolytiques telles que *A. aerogenes*, *A. cloacae*, *K. pneumoniae*, *Pseudomonas* divers, se produit également une autodestruction analogue de certaines de leurs bactériocines ; e) ces antibiotiques sont précipitables par les sels neutres et les solvants organiques (alcool éthylique, acétone) dans des conditions variables suivant l'antibiotique étudié.

Les bactériocines produites par les *Serratia* qui n'agissent ni sur *St. aureus* ou *albus*, ni sur *Candida albicans* et seulement exceptionnellement sur *B. subtilis* et *V. cholerae* se différencient des antibiotiques à large spectre extraits par Falina [4] des cultures de *Serratia* ; elles se différencient également des colicines ; en effet : 1° la majorité des bactériocines étudiées ici n'agissent que sur les souches de *Serratia* ; 2° les colicines types de Fredericq sont inactives sur les souches de *Serratia* que nous utilisons ici comme cultures révélatrices ; 3° il ne semble pas que ces bactériocines, même lorsqu'elles agissent sur les *E. coli*, puissent être élaborées par les *E. coli*, les mutants de K12 S résistant à douze de nos préparations ayant conservé leur sensibilité aux colicines types.

Ces bactériocines produites par les *Serratia* diffèrent également des pyocines ; en effet : 1° la souche P10 très sensible à la plupart des pyocines, n'est pas sensible aux bactériocines des *Serratia* ; 2° les pyocines 331, Capuletti, N60, St.5, St.6 n'agissent pas sur les souches de *Serratia* que nous utilisons ici comme cultures révélatrices. Elles diffèrent de même des fluocines, bactériocines élaborées par *Ps. fluorescens* (Hamon in Véron [5]) ; en effet, si les fluocines Pc 117 et PA4 agissent sur les souches 18-60 de *S. kilensis* et 17-60 de *S. plymuthicum*, les bactériocines élaborées par les *Serratia* sont inactives sur les souches de *Ps. fluorescens* généralement sensibles aux fluocines.

Les bactériocines élaborées par les *Serratia* forment donc une nouvelle famille de bactériocines que nous proposons de désigner sous le vocable de marcescines. Si l'on admet le concept de la spécificité d'action des bactériocines, l'action habituelle des marcescines sur les *E. coli*, constitue un argument en faveur de l'appartenance des *Serratia* à la famille des *Enterobacteriaceae*.

RÉSUMÉ. — Les *Serratia* élaborent des bactériocines différentes des colicines, des pyocines et des fluocines ; nous proposons de les désigner sous le terme de marcescines. L'action fréquente des marcescines sur les *E. coli* constitue, à notre avis, un argument en faveur de l'appartenance des *Serratia* à la famille des *Enterobacteriaceae*.

SUMMARY

STUDIES ON THE BACTERIOGINOGENIC PROPERTY IN THE GENUS *Serratia*.

Serratia produce bacteriocins, which differ from colicins, pyocins and fluocins. The authors propose to call them marcescins. Marcescins are often active on *E. coli*. In the authors' opinion this fact would constitute an argument in favour of the classification of *Serratia* among the *Enterobacteriaceae*.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] FALINA (N. N.), *Antibiotiki*, 1958, **3**, 23.
[2] GRATIA (A.), FREDERICQ (P.), JOIRIS (E.), BETZ-BAREAU (M.) et WEERTS (E.).
Ant. v. Leeuwenhoek, 1950, **16**, 31.
[3] HAMON (Y.) et PÉRON (Y.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1959, **97**, 518.
[4] JACOB (F.), SIMINOVITCH (L.) et WOLLMAN (E.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1952,
83, 293.
[5] VÉRON (M.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1961, Suppl. du numéro de juin, p. 16.

UTILISATION

**D'UN MILIEU A BASE DE PROTÉOSE-PEPTONE
(N° 3 DE DIFCO)
POUR LA CULTURE ET L'ENTRETIEN
DES SOUCHES CELLULAIRES HELA ET KB**

par P. GÉVAUDAN, R. RAY et G. ARNAUD.

(Institut d'Hygiène tropicale, Marseille)

Deux voies ont été suivies pour parfaire la mise au point de milieux pour la culture des cellules destinées à servir de terrain au développement des virus, l'une utilisant les milieux dits « synthétiques », l'autre mettant en œuvre des préparations comprenant des substances organiques complexes.

Parmi les milieux dits « synthétiques », l'une des formules les plus répandues a été le milieu 199 de Morgan, Morton et Parker [8]. Cette composition renferme un très grand nombre d'acides aminés et de vitamines. Sa préparation étant longue et coûteuse, on a tenté de la simplifier. Le Service des Virus de l'Institut Pasteur a employé un milieu 199 considérablement simplifié (Gamba [2]). Les auteurs canadiens ont aussi réalisé un milieu très simple dénommé SN-3 dont les composés aminés sont réduits à deux : la L-cystine et la L-glutamine, tandis que les vitamines sont absentes (Dubreuil et Pavilanis [4]).

Ces divers milieux synthétiques simplifiés suffisent, en l'absence d'autre liquide organique naturel (sérum, liquide amniotique), à maintenir en survie des fragments de tissus ou des cellules en feuillet pendant un délai de quinze jours permettant d'assurer la multiplication de certains virus et ils se prêtent mieux à l'étude des métabolismes cellulaires.

Dans une deuxième voie d'investigations, on a essayé des formules

comportant des substances complexes, et notamment des hydrolysats protéiques plus ou moins enrichis d'acides-amino et de vitamines.

L'une des formules les mieux adaptées paraît être celle du Service des Virus de l'Institut Pasteur, qui utilise l'hydrolysate de caséine comme produit auquel s'ajoutent quelques acides-amino et quelques vitamines (Lépine et coll. [4, 5]).

D'autres formules sont encore très usitées. L'une d'elles emploie comme produit de base l'hydrolysate de lactalbumine enrichi d'extrait de levure (Melnick [7]). Ces préparations permettent la prolifération cellulaire quand elles sont enrichies en sérum ou en liquide amniotique. Elles assurent également la survie des cellules avec de très faibles apports de sérum (par exemple 2,5 p. 100).

Par ailleurs, des essais ont été poursuivis pour vérifier l'action de diverses peptones. Mayyasi et Schuurmans [6] ont observé l'effet favorable produit par la protéose-peptone n° 3 de Difco, à la dose de 0,1 p. 100 en présence de sérum de cheval, sur la prolifération des cellules L souche Earle.

De notre côté, nous avons essayé d'utiliser un milieu à base de protéose-peptone n° 3 de Difco, pour l'entretien et la culture des cellules HeLa et KB. Après quelques tâtonnements, nous nous sommes arrêtés à la formule suivante qui nous donne satisfaction depuis un an et qui nous a permis de reproduire une série de cellules HeLa et KB au cours d'environ 50 passages successifs.

Composition et préparation du milieu :

| | |
|--------------------------------------|----------|
| Protéose-peptone n° 3 de Difco | 5 g |
| Solution saline de Hanks | 1 000 ml |

Ce milieu est réparti en flacons, à raison de 90 à 180 ml, puis stérilisé à l'autoclave à 120° pendant vingt minutes. Chaque flacon réserve un volume pour l'apport, au moment de l'emploi, de 5 ou 10 p. 100 de sérum de poulain et des antibiotiques usuels. Il ne reçoit aucun extrait de levure et aucune vitamine. Il présente un pouvoir tampon élevé. Il nécessite très peu de bicarbonate et son virage au cours de la culture cellulaire se fait plus tardivement qu'avec un milieu classique.

À titre d'exemple, nous l'avons comparé au milieu à l'hydrolysate de caséine qui est celui que nous employons couramment et qui nous donne satisfaction. Les résultats moyens d'un certain nombre d'essais figurent dans le tableau I.

On voit que la prolifération cellulaire y est en général moindre que dans le milieu à l'hydrolysate de caséine, sans pour autant lui être très inférieure. On doit également noter qu'en présence de très faibles quantités de sérum de poulain (2,5 p. 100), la prolifération n'est pas nulle, ce qui permet d'inférer que le milieu à la protéose-peptone doit se prêter également à la mise en survie des cellules.

Des résultats identiques ont été obtenus avec des souches de cellules HeLa.

Utilisation du milieu à la protéose-peptone n° 3 en primo-culture. — L'efficacité du milieu à la protéose-peptone n° 3 a été vérifiée dans le cas d'une primo-culture de rein de lapin, suivie de subcultures successives.

TABLEAU I. — Etude comparée de la reproduction des cellules KB dans un milieu à la protéose-peptone et dans le milieu de Lépine.

| DÉSIGNATION DE L'ÉCHANTILLON | % DE SÉRUM DE POULAIN | NUMÉRATION INITIALE T=0 | 2 ^e NUMÉRATION T=24 H | 3 ^e NUMÉRATION T=48 H | 4 ^e NUMÉRATION T=72 H | 5 ^e NUMÉRATION T=96 H |
|--|-----------------------|-------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Milieu à la protéose-peptone (5‰) | | | | | | |
| A | 20 | 105 000 | 50 000 | 85 000 | 168 000 | 193 000 |
| B | 10 | 103 000 | 43 000 | 82 000 | 110 000 | 181 000 |
| C | 5 | 90 000 | 46 000 | 65 250 | 97 500 | 91 500 |
| D | 2,5 | 91 000 | 40 000 | 30 000 | 45 000 | 76 000 |
| Milieu à l'hydrolysate de caséine (Lépine) | | | | | | |
| A | 20 | 97 000 | 42 000 | 125 000 | 131 000 | 227 500 |
| B | 10 | 92 000 | 40 000 | 111 000 | 126 000 | 223 000 |
| C | 5 | 80 000 | 29 000 | 79 000 | 89 250 | 110 000 |
| D | 2,5 | 92 000 | 51 500 | 29 000 | 50 000 | 92 000 |

Un rein de lapin a été trypsiné suivant la méthode classique (Rapaport [9]). Après un seul rinçage dans la solution saline de Hanks, les cellules ont été dispersées à raison de 300 000 par millilitre dans le milieu à la protéose-peptone additionné de 20 p. 100 de sérum de poulain. La suspension ainsi réalisée a été répartie à raison de 20 ml par flacon pharmaceutique de 200 ml qui ont été placés à l'étuve à 37° C. Des cultures témoins ont été réalisées avec du milieu à l'hydrolysate de caséine.

Après quarante-huit heures d'incubation, on a pu vérifier que les cellules étaient bien collées dans tous les flacons et les témoins. La reproduction cellulaire était active à partir du troisième jour, elle aboutissait à la formation d'un feuillet cellulaire continu vers le sixième jour.

Par la suite, des subcultures ont été pratiquées sur le lot témoin et sur le lot en observation. Dans le milieu à l'hydrolysate de caséine, les cellules ont résisté à neuf passages successifs, après quoi elles ont dégénéré. Dans le milieu à la protéose-peptone, les cellules en sont à leur treizième passage et vont subir le quatorzième.

CONCLUSIONS. — Ce milieu nous paraît intéressant pour assurer l'entretien des souches de cellules HeLa et KB, car le ralentissement de la prolifération et le bon maintien du pH permettent d'effectuer des repiquages plus espacés qu'avec les autres milieux. Il peut être également utilisé pour les primo-cultures et les subcultures de rein de lapin. Enfin, ce milieu est très facile à préparer et peu onéreux.

SUMMARY

A MEDIUM CONTAINING PROTEOSE-PEPTONE (Difco n° 3)
FOR CULTURE AND MAINTENANCE OF HeLa AND KB CELL STRAINS.

Description of the medium.

The slowing down of cell proliferation and pH stability allow to carry out less frequent transfers than with other media. The medium may also be used for rabbit kidney primo and subcultures.

Moreover, the preparation of this medium is very easy and not expensive.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] DUBREUIL (R.) and PAVILANIS (V.). *Canad. J. Microbiol.*, 1958, **4**, 543-550.
 - [2] GAMBA (F.), *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, **95**, 784-787.
 - [3] HEALY (G. M.), FISHER (D. C.) and PARKER (R. C.). *Canad. J. Biochem.*, 1954, **32**, 327-337.
 - [4] LÉPINE (P.), DANIEL (Ph.), PELMONT (J.) et SLIZEWICZ (P.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1957, **92**, 567-575.
 - [5] LÉPINE (P.), SLIZEWICZ (P.), DANIEL (P.) et PACCAUD (M.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1956, **90**, 654-656.
 - [6] MAYYASI (S. A.) and SCHUURMANS (D. M.). *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1956, **93**, 207-210.
 - [7] MELNICK (J. F.) and RIORDAN (J. T.). *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1952, **81**, 208-213.
 - [8] MORGAN (J. F.), MORTON (H. J.) and PARKER (R. C.). *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1950, **73** 1-8.
 - [9] RAPPAPORT (C.). *Bull. O. M. S.*, 1956, **14**, 147-166.
 - [10] RHODES (A. J.), WOOD (W.) et DUNCAN (D.). In *La poliomyélite*, Monographie de l'O. M. S., Genève, 1955, n° 26.
-

EFFETS DU VIRUS COXSACKIE B3 SUR LA SOURIS GESTANTE ET SA TRANSMISSION TRANSPLACENTAIRE

par A. SURJUS.

(*Institut d'Hygiène et de Bactériologie de la Faculté de Médecine
de Strasbourg*)

Le 5 mars 1960 mourait à l'hôpital de Strasbourg, le jeune M. J., âgé de 2 jours.

Le 7 mars 1960 mourait M. M., mère de l'enfant.

Les prélèvements autopsiques étaient adressés à notre laboratoire de virologie. Il fut isolé du myocarde de l'enfant et de la mère un même virus Coxsackie B. Ce cas clinique particulier semblait prouver, comme le pensent certains auteurs, que le virus se transmet de la mère à l'enfant et que l'état de grossesse sensibilise l'organisme maternel au point que celui-ci réagit par une maladie apparente pouvant être mortelle.

Notre but a été de reproduire chez l'animal ces mêmes phénomènes.

L'expérimentation a été faite sur des souris adultes jeunes âgées de 2 à 3 mois.

Les souris ont été inoculées par voie intrapéritonéale à différentes époques par rapport à la mise au mâle, avec du virus Coxsackie B3, à raison de 0,5 cm³ de virus à la dilution de 10⁻². Dix-huit jours après, les souris sont séparées et examinées tous les jours ainsi que les souriceaux dès leur naissance. Des prélèvements (souris-mères et souriceaux) ont été effectués pour recherche de virus.

Les résultats sont consignés dans le tableau ci-joint.

| | SOURIS TEMOINS | SOURIS INOCULÉES PENDANT LA | | | |
|--|-------------------|--|--|---|---|
| | | 1 ^{re} semaine avant la fécondation | 1 ^{re} semaine après la fécondation | 2 ^e semaine après la fécondation | 3 ^e semaine après la fécondation |
| Nombre de souris. . . . | 12 | 15 | 11 | 4 | 15 |
| Nombre de souriceaux par portée (moyenne) . . . | 6,5 ± 2 | 3,3 ± 2 | 4,2 ± 1 | 6,2 ± 1 | 6,1 ± 2 |
| Mortalité des souriceaux | | 50/50 | 47/47 | 25/25 | 92/92 |
| Mortalité des souris-mères. . | | 0/15 | 0/11 | 2/4 | 14/15 |

1° *Transmission transplacentaire.* — Nous constatons que tous les souriceaux ont été malades et sont morts ; certains, mort-nés étaient encore entourés de leurs membranes fœtales.

Nous pouvons en conclure que l'atteinte de ceux-ci s'est faite *in utero*, d'autant que tous les prélèvements effectués se sont révélés positifs, le virus initial étant retrouvé.

Pour éliminer une contamination possible après la naissance, dans une expérience ultérieure identique quant aux conditions nous avons prélevé aseptiquement des souriceaux *in utero*. Le virus a chaque fois été retrouvé.

2° *Influence sur la fécondation.* — Le virus paraît avoir eu également une influence défavorable sur la fécondation ou du moins sur la nidation et le développement de l'embryon, si l'on en juge par le nombre réduit de souriceaux par portée durant la semaine précédant et suivant la fécondation. Ce fait semble confirmé par le nombre normal de souriceaux dans la deuxième et la troisième semaine, époque où le fœtus est suffisamment développé pour résister.

3° *Sensibilisation de la mère à l'action virale.* — La sensibilisation des souris-mères est évidente à partir de la deuxième semaine. La gestation paraît en être responsable : son influence est d'autant plus grande qu'elle est plus avancée. Les souris-mères meurent en général quelques jours après la mise bas (de un à sept jours). Il en est certaines qui meurent avant la mise bas. L'autopsie de ces dernières a montré chaque fois qu'elles étaient en état de gestation avancée. Quelques avortements ont ainsi pu être constatés (placentas sans fœtus).

Ainsi l'expérimentation entreprise chez la souris donne des résultats comparables et superposables au cas clinique envisagé.

Mais quel est le mécanisme de cette sensibilisation ?

La gestation peut jouer par son état hormonal spécial. Nous savons déjà par Kilbourne que la cortisone sensibilise la souris adulte au virus Cocksackie. Nous avons repris cette même expérience qui a été positive à 100 p. 100. Une deuxième expérience faite avec la folliculine (benzogynestryl) a donné des résultats semblables avec un pourcentage légèrement inférieur (75 p. 100).

Une deuxième hypothèse peut être suggérée : l'augmentation de la virulence due au tissu fœtal serait favorable au développement du virus. Signalons à ce point de vue, l'obtention d'une souche de virus qui tue la souris adulte au titre de 10^4 DI_{50} par passages successifs intracérébraux à des souris saines, à partir de cerveaux de souris malades. Une expérimentation plus complète a été faite ; elle fera l'objet d'une publication plus détaillée.

4° *Variations de l'immunité.* — Quel que soit le mécanisme de la sensibilisation, on pouvait se demander si les souris survivantes de l'expérience précédente étaient à l'abri d'une nouvelle sensibilisation. Après un mois de repos, nous avons repris ces souris et nous les avons placées dans les conditions exactes de notre première expérience. Les souris ont été inoculées tardivement pour être dans la période de sensibilisation maximum. Le calcul des dates de fécondation a montré que les souris ont été inoculées entre le quatorzième et le dix-huitième jour

qui a suivi la fécondation. Les résultats obtenus sont identiques à ceux de la première expérience : la sensibilisation s'est reproduite, les souris ont été malades et sont mortes le plus souvent quelques jours après la mise bas.

CONCLUSION. — Le virus Coxsackie est transmis par voie transplacentaire. Il peut avoir une action sur la fécondation.

La gestation sensibilise l'organisme maternel à l'action du virus, surtout à la fin de celle-ci. Elle inhibe l'immunité naturelle et acquise de la souris.

SUMMARY

EFFECTS OF COXSACKIE B3 VIRUS ON PREGNANT MICE, AND ITS TRANSPLENTARY TRANSMISSION.

Coxsackie virus can be transmitted by the transplacental route. It may have an influence on fecundation.

Pregnancy (particularly in the end) sensitizes the mother to the action of the virus ; in mice, it inhibits natural and acquired immunity.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] DALLDORF (G.) and GIFFORD (R.). *J. exp. Med.*, 1954, **99**, 21-27.
 - [2] DELVILLE (P.) et PATFYN (S.-R.). *Ann. Soc. Bel. Méd. trop.*, 1957, **37**, 51-62.
 - [3] KILBOURNE (E. D.) and HORSFALL (F. L.). *Proc. Soc. exp. Biol.*, 1951, **77**, 135.
 - [4] KILBOURNE (E. D.), PERRIER (D.) and WILSON (C.). *J. Lab. Clin. Med.*, 1953, **42**, 826-827.
-

RÉPARTITION DE LA MATIÈRE MINÉRALE DANS LA SPORE DE *BACILLUS CEREUS*

par G. KNAYSI

(*Cornell University, Ithaca, N. Y.*)

Le rôle des minéraux dans la formation, la germination, et la résistance de l'endospore bactérienne est maintenant bien connu des bactériologistes. En particulier, il a été établi par Tinelli [2] et par Powell [4] que le dipicolinate de calcium constitue de 12 à 15 p. 100 du poids sec de la spore normale, et que ce sel est excrété très tôt pendant la germination. Les propriétés optiques de la spore, son imperméabilité et la facilité avec laquelle le dipicolinate est perdu par la spore n'ont jusqu'ici pas permis de déterminer la place où le sel se trouve dans la spore. Il nous a semblé, cependant, que la méthode de micro-incinération pourrait fournir la solution de ce problème. Peut-être à cause de la petite taille de la cellule bactérienne et de la nécessité

LÉGENDE DE LA PLANCHE

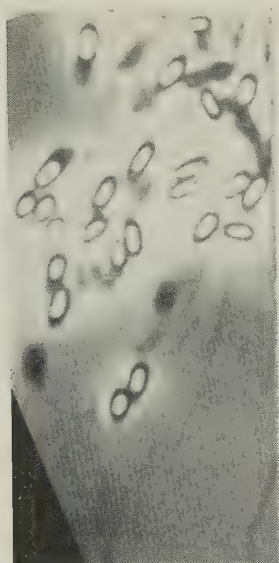
FIG. 1 (60-H, 11). — Microculture sur collodion montrant des spores. La microculture a été fixée à sec pendant deux minutes par du formol gazeux, montée dans de l'eau distillée entre lame et lamelle, et observée avec le système optique décrit dans le texte.

FIG. 2 (60-H, 24). — Spodogrammes des spores de la figure 1 montés à l'air entre lame et lamelle comme pour la figure 1.

FIG. 3 (60-H, 32). — Microculture sur collodion semblable à celle de la figure 1 et observée de la même manière, après incubation de cinq minutes sur du bouillon de bœuf contenant 5 g de tryptone et 5 g de glucose par litre. Noter que deux des spores ont commencé à s'obscurcir.

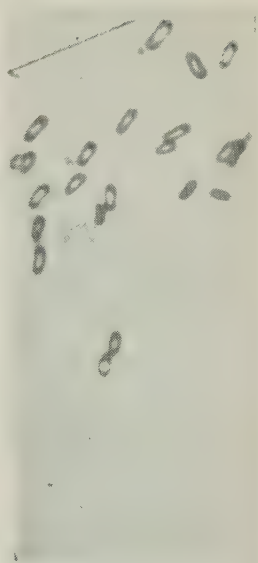
FIG. 4 (61-A, 7). — Spodogrammes des spores de la figure 3 observés comme pour la figure 2. Noter que la partie centrale est moins claire et généralement plus étroite que dans la figure 2. Elle a disparu, ou presque disparu, dans les spodogrammes des spores *a-c*. Parfois ces transformations ont lieu avant qu'on puisse déceler aucun changement dans l'apparence des spores (*Cf.* spodogrammes *b* et *c* avec les spores correspondantes de la figure 3).

L'échelle de la figure 1 est commune à toutes les figures. Les nombres et lettres qui suivent les numéros des figures servent à identifier les épreuves négatives dans la bibliothèque de l'auteur.



1

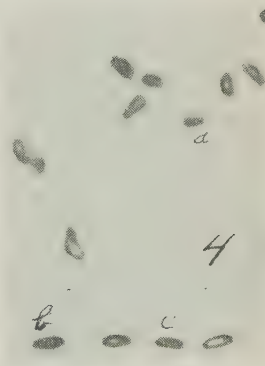
10 μ



2



3



4

de faire les observations avec un objectif à sec, par conséquent de puissance limitée, cette méthode n'a pas encore été appliquée aux bactéries. Nous avons constaté que lorsqu'on emploie des spores relativement grandes, comme celles de *Bacillus cereus*, un bon objectif à sec peut déceler des détails très valables au moins pour indiquer une direction expérimentale à toute interprétation de la structure de la spore. Nous nous sommes servi d'un système optique de Zeiss à contraste de phase, qui comportait un objectif grossissant quarante fois et ayant une ouverture numérique de 0,75 (Ph 2 ; 40/0,75), et un oculaire 20x (KPL). Ce système avait une limite de résolution théorique de $\lambda/3$ et donnait sur la pellicule photographique un grandissement de 420.

Comme le montre la figure 2 de la planche, la matière minérale de la spore est concentrée dans une couche qui longe la périphérie de la spore. La partie centrale de la spore, limitée par cette couche, semble être très pauvre en matière minérale. Les relations de cette couche avec la paroi et avec le protoplasme de la spore n'ont pas encore été déterminées. Dès le début de la germination, la matière minérale commence à diffuser dans la région claire centrale qui devient de plus en plus petite et, après quelques minutes, la matière minérale semble être uniformément répartie dans la spore (pl., fig. 4, a-c). Ceci peut se produire avant même qu'on puisse déceler aucun changement dans la densité optique de la spore.

La spore étant riche en dipicolinate de calcium et la partie centrale étant pauvre en matière minérale, il est évident que le dipicolinate se trouve dans la couche périphérique. Ceci explique la rapidité avec laquelle l'excrétion de ce sel commence quand la spore est placée dans un milieu favorable à la germination.

RÉSUMÉ. — Le spodogramme de la spore de *Bacillus cereus* (souche C₃) montre que la matière minérale est concentrée dans une couche périphérique de la spore. La partie centrale, limitée par cette couche, semble être pauvre en matière minérale. Dès que la germination commence, la matière minérale diffuse vers le centre et, en quelques minutes, semble s'être uniformément distribuée à travers la spore.

SUMMARY

DISTRIBUTION OF THE MINERAL MATTER IN THE SPORE OF *Bacillus cereus*.

Spore spodograms of *Bacillus cereus*, strain C₃, show that the mineral matter is concentrated in a layer that runs along the periphery of the spore and surrounds a minerally poor core. As soon as germination begins, the mineral matter begins to diffuse toward the center and, within a few minutes, it appears uniformly distributed throughout the spore.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] POWELL (J. F.). *J. appl. Bact.*, 1957, **20**, 349.
- [2] TINELLI (R.). *Ann. Inst. Pasteur*, 1955, **88**, 212.

Les communications suivantes paraîtront en *Mémoire* dans les *Annales de l'Institut Pasteur* :

Recherches sur le comportement fermentatif des bacilles typhiques à l'égard du xylose naturel D (+) et de son inverse optique L (—), par P. NICOLLE, J. NICOLLE et M^{me} G. DIVERNEAU.

Etude comparée de l'effet bactéricide des associations d'antibiotiques à base de colistine sur les Entérobactériacées et les Pseudomonadacées, par R. CLUZEL, J. MICHEL, R. VAURS et M. CLUZEL-NIGAY.

Etude de l'action inhibitrice spécifique des antisérums sur les cultures L des bactéries. — I. Exclusion du rôle des anticorps O et H dans le phénomène d'inhibition spécifique des cultures L, par R. MINCK, A. KIRN et M^{lle} FLECK.

Mode de propagation des bacilles dysentériques. — I. Etude expérimentale chez le cobaye avec *Shigella sonnei*, par M^{me} S. SZTURM-RUBINSTEN et M^{me} D. PIÉCHAUD.

Pouvoir élastolytique des filtrats de culture d'un germe appartenant au groupe *subtilis-mesentericus*, par Ph. COMTE, Suzanne BAZIN et A. DELAUNAY.

Etude bactériologique de ganglions lymphatiques apparemment sains prélevés au cours d'interventions d'exérèse pulmonaire chez des malades tuberculeux, par J. AUDRIN, G. MARET et J. ROUTIER.

Le diagnostic bactériologique de la diphtérie, par L.-A. ROBIN, H. MAGARD et E. ALVES DE ALMEIDA.

L'influence de la protamine sur la morphologie des bactéries, par G. MOUSTARDIER, Ch. DULONG DE ROSNAY, P. DU PASQUIER et J. LATRILLE.

Isolement et purification des bactéries cellulolytiques aérobies du sol, par J. RIVIÈRE.

Etude de la tolérance de la souris surrénalectomisée au moyen d'une endotoxine marquée avec du ⁵¹Cr, par L. CHEDID et M^{lle} M. PARANT.

Le titrage des sérums anti-venimeux. — III. Comparaison, avec le venin de *Vipera aspis*, entre les résultats des réactions de précipitation, de séro-neutralisation de la toxicité cellulaire et de séro-protection chez la souris, par F. ROGER, ANNIE ROGER, R. LAMY et M. ROUYER.

ÉLECTIONS

MM. Ardisson, Bourse, Brumpt, Girier, Lagodsky, Sizaret, M^{me} Oha-
nessian, ont été élus membres de la Société Française de Microbiologie.

LIVRES REÇUS

J. Verne. — *Précis d'histologie*. 5^e édition, 1 vol., 690 p., 408 fig.
Masson, édit., Paris, 1960. Prix : 30 NF.

La cinquième édition du Précis d'Histologie du professeur J. Verne reste fidèle à son plan général. Elle a été cependant remaniée dans sa tendance et en partie dans sa disposition. L'histologie, de purement morphologique, devient chaque jour plus physiologique : les apports récents de la microscopie électronique, des radio-isotopes en histo-auto-radiographie et de l'histochimie ont été très largement introduits dans cette nouvelle édition. Non seulement les étudiants y trouvent ce qui leur est nécessaire, mais surtout les biologistes et pathologistes s'y référeront avec grand profit. Cet ouvrage fait le point actuel d'une discipline fondamentale qui a trouvé dans les méthodes d'exploration actuelles de nouvelles bases pour le progrès des connaissances. Soyons reconnaissants au professeur J. Verne de nous en faire bénéficier.

P. D.

P. Fourman. — *Calcium metabolism and the bone*. 1 vol., 325 p.,
Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1960. Prix : 37 s. 6 d.

L'auteur se place au point de vue du clinicien pour étudier les perturbations du métabolisme dans les os. Après avoir, dans une première partie, résumé nos connaissances sur la physiologie de l'os, le métabolisme du calcium et du phosphore, le rôle des parathyroïdes, il consacre une seconde partie à l'étude de diverses affections métaboliques de l'os (hypocalcémie, hypercalcémie, calculs rénaux, ostéoporose, rôle de la thyroïde, des vitamines, etc.). Les derniers chapitres traitent de l'effet des maladies rénales et osseuses sur le métabolisme du calcium et du phosphore. L'ouvrage, qui comporte une très importante bibliographie (75 pages), sera utile non seulement au clinicien, mais aux spécialistes de nombreuses disciplines.

H. T.

H. Genz. — *Die sozialhygienische Bedeutung der Toxoplasmose*. 1 vol.,
136 p., 10 fig. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1961. Prix : 13 DM.

Les pédiatres connaissent bien l'importance acquise récemment par la toxoplasmose dont la fréquence chez l'enfant, notamment, est reconnue depuis quelques années. Cette monographie passe en revue

nos connaissances actuelles sur le toxoplasme découvert par Charles Nicolle. Après un bref rappel parasitologique et sérologique, la symptomatologie de l'affection chez l'animal (lapin, lièvre, cobaye, porc, oiseau, chat, chien) est résumée. On trouvera ensuite la symptomatologie chez l'enfant, les conséquences sociales de la maladie responsable de la mortalité fœtale et des syndromes neurologiques, les contaminations de laboratoire et le traitement. A. E.

F. Brockington. — *The health of the community*. 1 vol., 345 p., J. et A. Churchill, édit., Londres, 1960. Prix : 35 shillings.

Cet ouvrage étudie l'évolution de la santé publique depuis l'antiquité jusqu'aux temps actuels, mais la partie historique concernant la question au moment de l'industrialisation du XIX^e siècle est particulièrement intéressante. A cette époque, les enfants travaillaient dans les usines et dans les mines à partir de l'âge de cinq ans. Il fallut attendre 1833 pour voir limiter à neuf heures la journée des enfants de moins de 11 ans et à douze heures celle des enfants de moins de 18 ans. Cette limitation ne se fit cependant pas sans résistance, les opposants prédisant un désastre industriel si elle avait lieu en Angleterre et n'était pas appliquée par d'autres nations. Lord Macaulay réfuta cette argumentation en répondant que les mêmes catastrophes avaient été prédites lorsque, trente ans auparavant, on avait réduit la journée des enfants de 8 ans, qui était alors de quinze heures. Peu à peu des lois furent votées pour réglementer le travail des femmes, assurer la vaccination antivariolique, instituer les premiers officiers de santé, etc. En 1907 fut établi le School Health Service dont le but était de remédier au mauvais état sanitaire des écoliers. Ce n'est qu'après la première guerre mondiale qu'un ministère de la Santé, réclamé depuis deux cents ans, fut créé. La seconde guerre, avec son rationnement obligatoire, eut pour conséquence inattendue une amélioration de l'état de santé général, due à une répartition plus égalitaire et à des distributions de vitamines, lait, fruits, à une classe de la population qui n'en avait presque jamais consommé. Puis ce fut, après la guerre, la création du National Service Act, instituant la gratuité des soins médicaux, et les diverses mesures prises dans les différents domaines de la santé publique. Les derniers chapitres étudient plus particulièrement certaines maladies (tuberculose, etc.) et la protection de certains groupes vulnérables (infirmes, vieillards, etc.).

Bien que le livre soit en principe destiné aux étudiants en médecine et aux médecins, il intéressera un public beaucoup plus étendu et, comme il est dit dans la préface, « personne ne pourra rester insensible aux leçons qui s'en dégagent ». H. T.

Charles Nicolle. — *Destin des maladies infectieuses*, suivi de *L'expérimentation dans l'étude des maladies infectieuses*. Préface de M. Georges Duhamel. Introduction du Dr Pierre Nicolle. Tome I de la collection des Classiques de la Médecine, éditée sous l'égide de la Guilde Internationale des Médecins par l'Alliance Culturelle du Livre. Genève, Paris, Bruxelles, 1961.

Il est heureux qu'on ait réédité ce livre célèbre, car il est de la grande lignée de ces œuvres éternelles qu'on rééditera toujours et qu'on relira toujours, que ce soit dans l'ordre scientifique : les Aphorismes, le Discours de la Méthode, le Traité de l'Auscultation médiate ou l'Introduction à l'Etude de la Médecine Expérimentale, ou dans l'ordre littéraire, historique ou philosophique : l'Iliade, l'Odyssée, la Bible, Pantagruel, Candide, la Comédie Humaine, la Recherche du Temps perdu ou les Mémoires de guerre de Charles de Gaulle.

Ratiociner sur le contenu de ce livre serait faire injure aux lecteurs de ces Annales. Tous l'ont lu et relu. Mais il est probable que tous — surtout parmi les jeunes — ne le possèdent pas encore dans leur bibliothèque, parce qu'il était épuisé depuis longtemps. Aussi faut-il féliciter et remercier chaleureusement tous ceux qui ont participé à le rééditer dans une forme luxueuse qui, par sa qualité, plaira de plus aux amateurs de beaux livres : tout d'abord, la Guilde Internationale des Médecins, sous la Présidence d'honneur de Georges Duhamel, qui commence, avec cette réédition, la collection dite « Les classiques de la Médecine » dirigée par Stanislas de Sèze, Bernard Duhamel et J.-J. Chaumont, l'Alliance Culturelle du Livre (Genève, Paris, Bruxelles) ; enfin les deux descendants de Charles Nicolle : M^{lle} le Dr Marcelle Nicolle et notre collègue Pierre Nicolle.

Préfacé dans un style pittoresque et rempli de souvenirs par Georges Duhamel, qui fut l'ami intime de Charles Nicolle, il est précédé d'une belle introduction de Pierre Nicolle, fort émouvante, sur la vie et l'œuvre de son père.

Puis vient le *Destin des maladies infectieuses*, titre et forme définitifs d'un premier essai qui s'était appelé : *Naissance, vie et mort des maladies infectieuses*, dont les grand chapitres sont : maladies infectieuses et agents pathogènes ; la maladie infectieuse chez l'individu ; la maladie épidémique ; naissance des maladies infectieuses ; mort des maladies infectieuses.

A la suite de cette première partie, nous trouvons un autre livre de Charles Nicolle : *L'expérimentation dans l'étude des maladies infectieuses*, avec ses quatre chapitres : l'expérimentation sur les animaux, l'expérimentation sur l'homme, l'expérimentation médicale en action ; les associations microbiennes ; porteurs de germes et microbes de sortie.

Je suis sûr que ce premier tome des Classiques de la Médecine aura une large audience, car il constitue un fonds indispensable de la bibliothèque de tout biologiste cultivé.

R. P.

J. Paul. — *Cell and tissue culture*, 2 édit., 1 vol., 312 p. E. et S. Livingstone édit., Edimbourg et Londres, 1960. Prix : 32/6.

Cette seconde édition constitue, comme la première, un excellent manuel de technique de culture cellulaire. Il comporte à la fois des chapitres consacrés aux notions théoriques indispensables pour aborder les cultures cellulaires, et des chapitres de technique proprement dite. Ceux-ci sont détaillés, clairs, enrichis de plus de soixante clichés ou schémas. Ils apportent de nombreux renseignements pratiques, qu'il s'agisse de l'organisation du laboratoire, du choix et de l'entretien du

matériel et de la verrerie, des milieux de culture, du choix et du prélèvement des tissus à cultiver, de leur transport et de leur conservation. Un chapitre est consacré aux techniques d'histologie, de numération cellulaire, de photographie, etc., un autre aux études métaboliques. Il est fait mention également des cultures d'organes suivant les techniques de Fell et Wolff. Les pages réservées à la virologie et aux parasites cellulaires autres que les virus pourront paraître brèves, mais ces sujets sont traités dans des ouvrages spécialisés. Ajoutons que chaque chapitre est suivi d'une bibliographie abondante. Ce manuel qui pourra être développé et agrandi dans les éditions ultérieures, mérite, tel qu'il est, d'être recommandé.

M. V.

J.-H. Heller. — *Reticuloendothelial structure and function*. 1 vol., 473 p. The Ronald Press Cy., New York, 1960. Prix : \$ 12.

Cet ouvrage contient les comptes rendus du III^e Symposium International de la Société d'Etude du Système Réticuloendothélial, tenu à Rapallo en 1958.

Ce Symposium a couvert un grand nombre de sujets, comme la morphologie du système cellulaire en rapport avec la synthèse des anticorps, les mécanismes de défense, la properdine, l'action du choc, les anticorps, les hormones, les radiations, la technique d'étude des isotopes, les tumeurs et la leucémie, l'inflammation, le métabolisme du cholestérol et des lipides dans leurs rapports avec le S. R. E.

Chacun des sujets a été traité par l'un des spécialistes les plus connus. Parmi les 32 communications présentées, les plus intéressantes sont les suivantes : Relation entre la formation des anticorps et le S. R. E., par F. LA VIA et coll. Synthèse des anticorps, par W. H. TALIAFERRO. Lieux et mécanismes des réponses antigéniques par A. B. STAVITSKY. Rôle des éosinophiles dans le déclenchement de la formation des anticorps, par R. S. SPEIRS. Rôle opsonisant de certains polypeptides tissulaires, par A. DELAUNAY. Action du zymosan sur le S. R. E., par J. H. HELLER. Comparaison de la properdine et du facteur antiphage, par A. EYQUEM et J. C. FRANCO. Mécanisme humoral de protection contre le choc traumatique, par S. M. REICHARD. Tolérance immunitaire chez les chimères induite par radiation, par J. F. LOUITT. Système S. R. E. et néoplasie, par K. STERN. Fonctions du S. R. E. au cours des tumeurs expérimentales, par B. N. HALPERN et G. BIOZZI, ainsi que dans les leucémies provoquées, par B. THORELL. Anomalies dans le métabolisme des protéines au cours des myélomes, par F. W. PUTNAM. Modifications de la résistance à *Salmonella typhi* chez les souris traitées par injection intraveineuse de poussières de tridymite, par B. PERNIS et L. BOLIS. Le S. R. E. au cours des anémies hémolytiques acquises, par A. M. MARMONT et F. A. FUSCO.

Bien que de nombreux travaux aient été effectués dans ce domaine depuis deux ans, la réunion dans un même ouvrage de ces différents articles permet au lecteur non spécialisé de se mettre au courant des divers aspects de ces problèmes.

La lecture de cet ouvrage est très agréable ; les illustrations sont d'excellente qualité. Un index de dix pages permet de retrouver facilement les différents sujets

A. E.

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

DU TOME 100

Notices nécrologiques.

| | |
|------------------------------------|-----|
| Charles OBERLING (1895-1960) | 128 |
| Etienne BURNET (1873-1960) | 401 |

| | |
|---|-----|
| ARNAUD (G.). — Voir GÉVAUDAN (P.). | |
| ASSELINEAU (J.). — Sur quelques applications de la chromatographie en phase gazeuse à l'étude d'acides gras bactériens.... | 109 |
| BADIN (J.). — Voir CABAU (N.). | |
| BARBU (E.), PANIJEL (J.) et QUASH (G.). — Caractérisation immuno-chimique des ribosomes | 724 |
| BARSKI (G.), CORNEFERT (M ^{lle} F.) et BIEDLER (J. L.). — Caractères évolutifs et permanents de cellules d'homme et de lapin au cours de leur adaptation à la vie <i>in vitro</i> | 324 |
| BAZIN (M ^{lle} S.) et DELAUNAY (A.). — Effet <i>in vitro</i> de certaines enzymes sur des fragments de cartilage provenant de l'oreille du lapin | 481 |
| — COMTE (Ph.) et DELAUNAY (A.). — Effet de l' α -chymotrypsine sur le tissu sous-cutané du rat | 588 |
| BERNARD (J.). — Voir LAMBIN (S.). | |
| BIEDLER (J. L.). — Voir BARSKI (G.). | |
| BIGUET (J.), HAVEZ (R.), VAN KY TRAN et DEGAEY (R.). — Etude électrophorétique, chromatographique et immunologique des antigènes de <i>Candida albicans</i> . Caractérisation de deux antigènes spécifiques | 13 |
| BILLY (C.) et PRÉVOT (A.-R.). — Recherches sur les odeurs dégagées par les anaérobies. — II. <i>Cl. corallinum</i> | 475 |
| BOISVERT (H.). — L'identification des Mycobactéries par l'épreuve de réduction des nitrates | 352 |
| BONNEFOI (A.), LE MINOR (L.) et LE MINOR (M ^{me} S.). — Courbes d'agglutinines obtenues chez les lapins immunisés au moyen de différents vaccins antityphoïdiques | 406 |

- BONNIER (Ch.). — Tumeurs spontanées sur racines de légumineuses stériles. Leur signification possible dans la symbiose à *Rhizobium* 358
- BOQUET (P.). — Voir IZARD (Y.).
- BOUILLE (M.). — Voir TOMCSIK (J.).
- BOYER (F.) et LAMENSANS (A.). — Action du jeûne et de la cortisone sur la sensibilité de la souris à l'infection staphylococcique. Utilisation en chimiothérapie 814
- BRISOU (J.) et VARGUES (H.). — Cycle vital de bactéries phytopathogènes adaptées au milieu marin 307
- CABAU (M^{lle} N.) et BADIN (J.). — Etude de l'inhibition non spécifique de la streptolysine O 765
- CAUSSE-VAILLS (M^{me} C.), ORFILA (M^{lle} J.) et FABIANI (M. G.). — Fractionnement électrophorétique des protéines et pouvoir protecteur du sérum du rat blanc immunisé contre *Plasmodium berghei* 232
- CETIN (E. T.) et TORECI (K.). — Etude de cinq souches de *Moraxella lwoffii* (*Acinetobacter lwoffii*) isolées de produits pathologiques 509
- CHAGNON (A.) et FREDETTE (V.). — Effet comparé de l'adrénaline et du facteur déchaînant sur les cultures de *Welchia perfringens*. — II et III 315 et 470
- CHALVIGNAC (M^{lle} A.). — Voir TARDIEUX (P.).
- CHARDONNET (M^{lle} Y.), PRUNIÉRAS (M.) et SOHIER (R.). — Effets cytopathogènes des adénovirus type 5 776
- CHARPENTIER (M.). — Voir TARDIEUX (P.).
- CINADER (B.). — Quelques aspects de la tolérance immunologique à l'égard d'antigènes définis 265
- COLOBERT (L.). — De la nature de la membrane limitant les protoplastes obtenus par l'action du lysozyme sur *Bacillus megaterium* 37
- et KIRN (A.). — Les propriétés lytiques du sérum normal. — II. Obsistine et antigène Vi d'*Eberthella typhi* 159
- — SERVANT (M^{lle} P.) et MONTAGNON (B.). — Les propriétés lytiques du sérum. — III. Influence chez le singe de la vaccination antityphoparatyphoïdique sur la teneur en obsistine 600
- — MONTAGNON (B.) et SERVANT (M^{lle} P.). — Les propriétés lytiques du sérum. — IV. Interférence du vaccin antipoliomyélitique sur la montée de l'obsistine provoquée chez le singe par la vaccination antityphoparatyphoïdique A et B 613
- COMTE (Ph.). — Voir BAZIN (M^{lle} S.).
- CORNEFERT (M^{lle} F.). — Voir BARSKI (G.).

- COURDEN (B.). — Voir ORFILA (M^{lle} J.).
- DAGUET (G.-L.), ROGER (F.) et ROGER (M^{me} A.). — La technique de séro-identification rapide des virus poliomyélitiques dans les selles. — I. Partie pratique 656
- Voir ROGER (F.).
- DEGAEY (R.). — Voir BIGUET (J.).
- DELAUNAY (A.). — Voir BAZIN (M^{lle} S.).
- DESCHIENS (R.), LE CORROLLER (Y.) et MANDOUL (R.). — Enquête sur les foyers de distomatose hépatique de la vallée du Lot. — I. Epidémiologie 697
- DETRAIT (J.). — Voir IZARD (Y.).
- DEVULDER (B.). — Voir TACQUET (A.).
- DIGEON (M.) et RAYNAUD (M.). — Toxicité et virulence comparées des formes S et R de *Salmonella typhi* sur embryon de poulet 344
- DIMOV (D.). — Voir PAVLOV (P.).
- DROUHET (E.). — Voir JELLISON (W. L.).
- DUNOYER (F.). — Voir GASTINEL (P.).
- DURAND (J.). — Voir TOUMANOFF (C.).
- DUREL (P.). — Voir ROIRON (V.).
- EDWARDS (P. R.). — Voir LE MINOR (L.).
- EYQUEM (A.). — Voir ORBACH-ARBOUYS (S.).
- FABIANI (M. G.). — Voir CAUSSE-VAILLS (M^{me} C.).
- FAGUET (M.). — La croissance de *Cl. sporogenes* étudiée au microbiophotomètre électronique. — I. Actions comparées de Ni⁺⁺ et Co⁺⁺ 594
- FARI (A.) et LAMENSANS (A.). — Action du sulfamide sur la synthèse des protéines bactériennes 81
- Voir LAMENSANS (A.).
- FAURE (M.). — Voir VOGELSANG (Th. M.).
- FERGUSON (W. W.). — Voir READ (K. S.).
- FIFE (M. A.). — Voir LE MINOR (L.).
- FOUACE (J.). — Voir WAHL (R.).
- FOUCAUD (M.). — Voir PILLET (J.).
- FREDETTE (V.). — Voir CHAGNON (A.).
- GALLUT (J.) et GIRARD (G.). — Action de la chlorpromazine sur l'intoxication et l'infection expérimentales de la souris par *Pasteurella pestis* (souche vacinale E. V.) 672
- GASTINEL (P.), VAISMAN (A.) et DUNOYER (F.). — Problèmes de l'incubation de *Spirocheta pallida* dans la syphilis du lapin... 1
- GÉHU (J. M.). — Activité microbiologique des sables de quelques groupements végétaux du littoral du Pas-de-Calais 638
- et GÉHU-FRANK (J.). — L'évolution de la microflore totale dans le sol de quelques types de landes armoricaines après incendie 545

- GÉHU-FRANK (J.). — Voir GÉHU (J. M.).
- GERMAN (A.). — Voir LAMBIN (M^{lle} S.).
- GÉVAUDAN (P.), RAY (R.) et ARNAUD (G.). — Utilisation d'un milieu à base de protéose-peptone (n° 3 de Difco) pour la culture et l'entretien des souches cellulaires HeLa et KB 821
- GIRARD (G.). — Voir GALLUT (J.).
- GOLDE (A.). — Voir VIGIER (P.).
- GRABAR (P.). — Voir MICHELI (A.).
— Voir NUSSENZWEIG (V.).
- GUILLON (G.). — Voir JACOTOT (H.).
- HAMON (Y.) et PÉRON (M^{me} Y.). — Etude de la propriété bactériocinogène dans le genre *Serratia* 818
- HARMEGNIES (J.), HAWARI (M.) et MUTSAARS (W.). — Le chauffage des germes et son effet sur la multiplication du phage partiellement inactivé par le formol 214
- HAVEZ (R.). — Voir BIGUET (J.).
- HAWARI (M.). — Voir HARMEGNIES (J.).
- HERMAN (F.). — Voir OYE (E. van).
- ITO (Y.). — Voir UYEDA (S.).
- YZARD (Y.), DETRAIT (J.) et BOQUET (P.). — Variations saisonnières de la composition du sang de *Vipera aspis* 539
- JACOTOT (H.), LEVADITI (J.-C.), VALLÉE (A.) et VIRAT (B.). — Sensibilisation expérimentale du porc à l'antigène de l'encéphalomyélite enzootique 420
— VIRAT (B.), VALLÉE (A.), LEVADITI (J.-C.) et GUILLON (J.-C.). — Exaltation du pouvoir pathogène du virus de l'encéphalomyélite enzootique des porcs inoculé par voie hypodermique 141
- JANEV (J.). — Voir PAVLOV (J.).
- JELLISON (W. L.), DROUHET (E.), SEGRETAIN (G.), L'HÉRITIER (M^{lle} M.) et PETER (F.). — Adiaspiromycose (haplomycose) chez les mammifères sauvages en France 747
- KHOUDOKORMOFF (V. A.). — L'assimilation de l'anhydride carbonique par *Nitrobacter winogradskyi* 257
- KIRN (A.). — Voir COLOBERT (L.).
- KNAYSI (G.). — Répartition de la matière minérale dans la spore de *Bacillus cereus* 828
- KOLOCHINE-ERBER (M^{me} B.) et MAILLOUX (M.). — Les leptospiroses humaines à *L. pomona* et *L. mitis* Johnson 1942 (maladie des porchers) 53
— Voir MAILLOUX (M.).
- KOTELKO (K.), STAUB (M^{lle} A. M.) et TINELLI (M^{lle} R.). — Etude immuno-chimique sur les *Salmonella*. — VIII. Rôle des groupements O acétyls dans la spécificité du facteur O : 5. 618

| | |
|---|-----|
| LAGARDE (E.). — Etude du pouvoir bactériostatique et bactéricide de quelques composés vis-à-vis d'une souche pure de bactéries sulfato-réductrices | 368 |
| LAJUDIE (M ^{me} J.). — Voir TARDIEUX (P.). | |
| LAMBIN (M ^{lle} S.), GERMAN (A.) et BERNARD (J.). — Etude de quelques substances bactériostatiques à l'égard de <i>Staphylococcus aureus</i> par la méthode des courbes de croissance | 427 |
| LAMENSANS (A.) et FARI (A.). — Etude de l'action antibactérienne du sulfamide | 71 |
| — Voir BOYER (F.). | |
| — Voir FARI (A.). | |
| LA PLACA (M.) et MOSCOVICI (C.). — Observations sur l'effet cytopathogène des <i>Myxovirus parainfluenzae</i> | 337 |
| LE CORROLLER (Y.). — Voir DESCHIENS (R.). | |
| LE MINOR (L.), EDWARDS (P. R.) et FIFE (M. A.). — Quatre nouveaux sérotypes d'Arizona | 131 |
| — Voir BONNEFOI (A.). | |
| LE MINOR (M ^{me} S.). — Voir BONNEFOI (A.). | |
| LEVADITI (J.-C.). — Voir JACOTOT (H.). | |
| L'HÉRITIER (M ^{lle} M.). — Voir JELLISON (W. L.). | |
| MAILLOUX (M.) et KOLOCHINE-ERBER (M ^{me} B.). — A propos de l'agglutinabilité des souches de <i>Leptospira australis</i> | 247 |
| — — Etude sur le métabolisme des leptospires. Essai de milieu chimiquement défini | 390 |
| — Voir KOLOCHINE-ERBER (M ^{me} B.). | |
| MANDOUL (R.). — Voir DESCHIENS (R.). | |
| MICHEL (A.) et GRABAR (P.). — Etude immuno-chimique des hémolysats de globules rouges humains. — IV. Les estérases carboxyliques et une protéase | 569 |
| MOLLARET (H.-H.). — Contribution à l'étude des caractères biochimiques de <i>Pasteurella pseudotuberculosis</i> | 685 |
| — Contribution à l'étude de l'inoculation par voie oculaire de <i>Pasteurella pseudotuberculosis</i> | 753 |
| MONTAGNON (B.). — Voir COLOBERT (L.). | |
| MOSCOVICI (C.). — Voir LA PLACA (M.). | |
| MUTSAARS (W.). — Voir HARMEGNIES (F.). | |
| NUSSENZWEIG (V.), SELIGMANN (M.), PELMONT (J.) et GRABAR (P.). — Les produits de dégradation du fibrinogène humain par la plasmine. — I. Séparation et propriétés physico-chimiques. | 377 |
| — — et GRABAR (P.). — Les produits de dégradation du fibrinogène humain par la plasmine. — II. Etude immunologique : mise en évidence d'anticorps anti-fibrinogène natif possédant des spécificités différentes | 490 |
| ORFILA (M ^{lle} J.) et COURDEN (B.). — Contribution au diagnostic différentiel d' <i>Hemophilus influenzae</i> et d' <i>Hemophilus aegyptius</i> . | 252 |

- ORFILA (M^{lle} J.). — Voir CAUSSE-VAILLS (M^{me} C.).
- ORBACH-ARBOUYS (S.) et EYQUEM (A.). — Influence de divers agents de chimiothérapie anti-cancéreuse sur la production d'hétéro-agglutinines chez le poulet 395
- ORTA (B.). — Voir PILLET (J.).
- OYE (E. van). — Sur la nature de l'antigène O : 27 des *Salmonellae*. 463
 — Ros (G. van) et HERMAN (F.). — Une nouvelle espèce de *Salmonella* en provenance du Congo : *Salmonella kivu* 812
- PANIJEL (J.). — Voir BARBU (E.).
- PARNAS (J.). — L'épreuve esculinique dans le diagnostic de la peste et de la pseudotuberculose 691
- PAVLOV (P.), DIMOV (D.), TCHILEV (D.) et JANEV (J.). — Présence dans le sérum de la tortue *Testudo graeca* en Bulgarie d'anticorps agglutinant *Pasteurella tularensis* 261
- PELMONT (J.). — Voir NUSSENZWEIG (V.).
- PÉRON (M^{me} Y.). — Voir HAMON (Y.).
- PERRIER (M.). — Voir PILLET (J.).
- PETTER (P.). — Voir JELLISON (W. L.).
- PILLET (J.), ORTA (B.), FOUCAUD (P.) et PERRIER (M.). — Etude sérologique de 559 souches de staphylocoques pathogènes isolées en France 713
- PILLOT (J.). — Voir VOGELSANG (Th. M.).
- POCHON (J.). — Voir TARDIEUX (P.).
- PRÉVOT (A.-R.). — Voir BILLY (C.).
- PRUNIÉRAS (M.). — Voir CHARDONNET (M^{lle} Y.).
- QUASH (G.). — Voir BARBU (E.).
- RASSETTI-NICOD (G.). — Voir ROIRON (V.).
- RAY (R.). — Voir GÉVAUDAN (P.).
- RAYNAUD (M.). — Voir DIGEON (M.).
- READ (K. S.) et FERGUSON (W. W.). — Control of Vi-phage of *Salmonella typhi* by polylysogenicity 120
- ROBBA (L.) et VIRAT (M^{me} J.). — Les réactions croisées dans la déviation du complément pour le diagnostic sérologique des affections à entérovirus avec les antigènes Coxsackie groupe B et ECHO 524
- ROGER (M^{me} A.). — Voir DAGUET (G.-L.).
 — Voir ROGER (F.).
- ROGER (F.), ROGER (M^{me} A.) et DAGUET (G.-L.). — La technique de séro-identification rapide des virus poliomyélitiques dans les selles. — II. Partie théorique 786
 — Voir DAGUET (G.-L.).
- ROIRON (V.), RASSETTI-NICOD (G.) et DUREL (P.). — Etude de la sensibilité actuelle du gonocoque aux principaux antibiotiques. 445
- ROS (G. van). — Voir OYE (E. van).

| | |
|--|-----|
| SANCHIS-BAYARRI (V.). — Etude de l'immunisation spontanée contre la poliomyélite à Valence (Espagne) | 531 |
| SECOND (L.). — Voir VÉRON (M.). | |
| SEGRETAÏN (G.). — Voir JELLISON (W. L.). | |
| SELIGMANN (M.). — Voir NUSSENZWEIG (V.). | |
| SEMOV (B. F.). — Voir SOLOVIEV (V. D.). | |
| SERVANT (M ^{lle} P.). — Voir COLOBERT (L.). | |
| SOHIER (R.). — Voir CHARDONNET (M ^{lle} Y.). | |
| SOLOVIEV (V. D.) et SEMOV (B. F.). — Influence sur la virulence et les caractères antigéniques du virus de la poliomyélite de type I de la culture prolongée <i>in vitro</i> sur cellules rénales de singe | 805 |
| STAUB (M ^{lle} A. M.). — Voir KOTELKO (K.). | |
| SURJUS (A.). — Effets du virus Coxsackie B3 sur la souris gestante et sa transmission transplacentaire | 825 |
| TACQUET (A.) et TISON (F.). — Résultats de l'isolement du bacille tuberculeux dans 55 000 crachats par le Teepol 410 basique. Influence du milieu de culture | 153 |
| — — Nouvelle technique d'isolement des Mycobactéries par le lauryl-sulfate de sodium | 676 |
| — — et DEVULDER (B.). — Action bactéricide du yaourt sur les Mycobactéries | 581 |
| TARDIEUX (P.), CHALVIGNAC (M ^{lle} A.), CHARPENTIER (M.), LAJUDIE (M ^{me} L.), TARDIEUX (A.) et POCHON (J.). — Interactions microorganismes-mais en culture hydroponique aux premiers stades de croissance | 243 |
| TCHILEV (D.). — Voir PAVLOV (P.). | |
| THIBAUT (P.). — Voir VÉRON (M.). | |
| TINELLI (R.). — Voir KOTELKO (K.). | |
| TISON (F.). — Voir TACQUET (A.). | |
| TOMCSIK (J.) et BOUILLE (M.). — Effets cytologiques des enzymes produites au cours de la sporulation des bacilles aérobies. | 25 |
| TORECI (K.). — Voir CETIN (E. T.). | |
| TOUMANOFF (C.) et DURAND (J.). — Virulence comparée pour les vers à soie de quelques variétés de <i>Bacillus cereus</i> Frank. et Frank. entomophages et cristallophores et de leurs inclusions cristallines | 290 |
| UYEDA (S.) et ITO (Y.). — Deux souches de mycobactériophages récemment isolées et leur action sur les micro-colonies d'une Mycobactérie saprophyte | 681 |
| WAHL (R.) et FOUACE (M ^{lle} J.). — Mutations d'une souche de <i>Staphylococcus aureus</i> vers la résistance à l'érythromycine avec perte de prophages | 553 |
| VAISMAN (A.). — Voir GASTINEL (P.). | |

| | |
|---|-----|
| VALLÉE (A.). — Voir JACOTOT (H.). | |
| VAN KY TRAN. — Voir BIGUET (J.). | |
| VARGUES (H.). — Voir BRISOU (J.). | |
| VÉRON (M.), THIBAUT (P.) et SECOND (L.). — <i>Neisseria mucosa</i> (<i>Diplococcus mucosus</i> Lingelsheim). — I. Etude anti- génique et classification | 166 |
| VIGIER (P.) et GOLDE (A.). — Recherches sur le virus du sarcome de Rous passé en série dans l'œuf | 200 |
| VIRAT (B.). — Voir JACOTOT (H.). | |
| VIRAT (M ^{me} J.). — Voir ROBBA (L.). | |
| VOGELSANG (Th. M.), PILLOT (J.) et FAURE (M ^{lle} M.). — Séro- diagnostic de la syphilis. Etude comparative des réactions classiques et de la fixation du complément avec l'anti- gène protéique du tréponème de Reiter | 190 |
| WERNER (G. H.). — Recherches expérimentales sur la chimiothé- rapie du trachome | 93 |

TABLE ANALYTIQUE

DU TOME 100

| | |
|--|-----|
| <i>Adaptation</i> . Cycle vital de bactéries phytopathogènes adaptées au milieu marin | 307 |
| <i>Adénovirus</i> . Effets cytopathogènes des — type 5 | 776 |
| <i>Adrénaline</i> . Voir <i>Gangrène gazeuse</i> , <i>Welchia perfringens</i> . | |
| <i>Anaérobies</i> . Odeurs dégagées par les — : <i>Cl. corallinum</i> | 475 |
| <i>Antibiotiques</i> . Pouvoir bactériostatique et bactéricide de quelques composés vis-à-vis d'une souche pure de bactéries sulfato-réductrices | 368 |
| — Voir aussi <i>Gonocoques</i> , <i>Staphylocoques</i> . | |
| <i>Arizona</i> . Quatre nouveaux sérotypes | 131 |
| <i>Bacille tuberculeux</i> . Isolement dans les crachats par le Teepol 410 basique | 153 |
| — Voir aussi <i>Mycobactéries</i> . | |
| <i>Bacillus cereus</i> . Voir <i>Spore</i> . | |
| <i>Bactériocines</i> . La propriété bactériocinogène dans le genre <i>Serratia</i> . | 818 |
| <i>Bactériophage</i> . Polylysogénéité d'un lysotype Vi de <i>S. typhi</i> | 120 |
| — Effet du chauffage des germes sur la multiplication du — partiellement inactivé par le formol | 214 |
| — Isolement de deux souches de mycobactériophages et leur action sur des micro-colonies d'une Mycobactérie saprophyte | 681 |
| — Voir aussi <i>Staphylocoque</i> . | |
| <i>Cancer</i> . Influence de divers agents anti-cancéreux sur la production d'hétéro-hémagglutinines chez le poulet | 395 |
| <i>Cartilage</i> . Effet <i>in vitro</i> de certaines enzymes sur des fragments de — de l'oreille du lapin | 481 |
| <i>Champignons</i> . Etude électrophorétique, chromatographique et immunologique des antigènes de <i>Candida albicans</i> | 13 |
| — <i>Adiaspiromycose</i> chez les mammifères sauvages en France | 747 |
| <i>Chimiothérapie</i> . Voir <i>Staphylocoque</i> . | |
| <i>Chromatographie</i> . Etude des acides gras bactériens par — en phase gazeuse | 109 |
| <i>Chymotrypsine</i> . Effets de l' α — sur le tissu sous-cutané du rat. | 588 |
| <i>Coxsackie</i> . Réactions croisées (déviation du complément) entre antigènes Coxsackie B et ECHO | 524 |
| — Effet du virus sur la souris gestante et sa transmission transplacentaire | 825 |

| | |
|---|-----|
| <i>Croissance microbienne</i> . Actions comparées de Ni^{++} et Co^{++} sur la croissance de <i>Cl. sporogenes</i> étudiée au microbiophotomètre électronique | 594 |
| — Voir aussi <i>Staphylocoques</i> . | |
| <i>Culture de cellules</i> . Caractères évolutifs et permanents de cellules d'homme et de lapin au cours de leur adaptation à la vie <i>in vitro</i> | 324 |
| — Utilisation d'un milieu à base de protéose-peptone pour la culture et l'entretien des cellules HeLa et KB | 821 |
| <i>Distomatose</i> . Les foyers de — hépatique dans la vallée du Lot. I. Epidémiologie | 697 |
| <i>ECHO</i> . Réactions croisées (déviations du complément) entre antigènes — et Coxsackie B | 524 |
| <i>Encéphalomyélite du porc</i> . Exaltation du pouvoir pathogène du virus inoculé par voie hypodermique | 141 |
| — Sensibilisation expérimentale du porc à l'antigène | 420 |
| <i>Enzymes</i> . Effets cytologiques des — produites au cours de la sporulation des bacilles aérobies | 25 |
| — Voir aussi <i>Cartilage</i> , <i>Chymotrypsine</i> , <i>Immunochimie</i> . | |
| <i>Erythromycine</i> . Voir <i>Staphylocoque</i> . | |
| <i>Fibrinogène</i> . Séparation et propriétés physico-chimiques des produits de dégradation du — humain par la plasmine | 377 |
| — Etude immunochimique des produits de dégradation du — humain par la plasmine | 490 |
| <i>Gangrène gazeuse</i> . Voir <i>Welchia perfringens</i> . | |
| <i>Gonocoque</i> . Sensibilité actuelle du — aux principaux antibiotiques. | 445 |
| <i>Groupes sanguins</i> . Les — — des Equidés du Tchad | 133 |
| — Voir aussi <i>Cancer</i> . | |
| <i>Hemophilus</i> . Diagnostic différentiel entre — <i>influenzae</i> et — <i>aegyptius</i> | 252 |
| <i>Immunochimie</i> . Antigènes des hémolysats de globules rouges : les estérases carboxyliques et une protéase | 569 |
| — Voir aussi <i>Ribosomes</i> , <i>Salmonella</i> . | |
| <i>Leptospiroses</i> . Les — humaines à <i>L. pomona</i> et <i>L. mitis</i> Johnson 1942 | 53 |
| — L'agglutinabilité des souches de <i>L. australis</i> | 247 |
| — Milieu chimiquement défini pour l'étude du métabolisme des leptospires | 395 |
| <i>Lysozyme</i> . Voir <i>Protoplastes</i> . | |
| <i>Maladie des porchers</i> . Voir <i>Leptospiroses</i> . | |
| <i>Microbiophotomètre</i> . Voir <i>Croissance microbienne</i> . | |
| <i>Moraxella lwoffii</i> . Etude de 5 souches isolées de produits pathologiques | 509 |
| <i>Mycobactéries</i> . Identification par l'épreuve de réduction des nitrates | 352 |
| — Action bactéricide du yaourt sur les — | 581 |

| | |
|---|------------|
| — Nouvelle technique d'isolement des — par le lauryl sulfate de sodium | 676 |
| — Voir aussi <i>Bactériophages</i> . | |
| <i>Myxovirus</i> . Voir <i>Virus paragrippaux</i> . | |
| <i>Neisseria mucosa</i> . Etude antigénique et classification | 166 |
| <i>Nitrobacter</i> . L'assimilation du CO ₂ par — <i>winogradskyi</i> | 257 |
| <i>Obsistine</i> . — et antigène Vi d' <i>Eberthella typhi</i> | 159 |
| — Influence chez le singe de la vaccination antitypho-paratyphoïdique sur la teneur du sérum en — | 600 |
| — Influence du vaccin antipoliomyélitique sur la montée de l'— provoquée chez le singe par la vaccination antityphoparatyphoïdique A et B | 613 |
| <i>Peste</i> . Action de la chlorpromazine sur l'intoxication et l'infection expérimentales de la souris par <i>Past. pestis</i> (souche vaccinale E. V.) | 672 |
| — L'épreuve esculinique dans le diagnostic de la — | 691 |
| <i>Photoréactivation</i> . — d' <i>E. coli</i> traité par les rayons ultraviolets. | 180 |
| <i>Poliomyélite</i> . L'immunisation spontanée à Valence (Espagne) .. | 531 |
| — La technique de séro-identification rapide des virus dans les selles. I. Partie pratique. II. Partie théorique | 656 et 786 |
| — Influence, sur la virulence et les caractères antigéniques du virus du type I, de la culture prolongée sur cellules rénales de singe. | 805 |
| <i>Prophages</i> . Voir <i>Staphylocoque</i> . | |
| <i>Protoplastes</i> . Nature de la membrane limitant les — obtenus par l'action du lysozyme sur <i>Bacillus megaterium</i> | 37 |
| <i>Pseudotuberculose</i> . Etude des caractères biochimiques de <i>Past. pseudotuberculosis</i> | 685 |
| — L'épreuve esculinique dans le diagnostic | 691 |
| — Etude de l'inoculation de <i>Past. pseudotuberculosis</i> par voie oculaire | 753 |
| <i>Rhizobium</i> . Voir <i>Tumeurs</i> . | |
| <i>Ribosomes</i> . Caractérisation immunochimique des — | 724 |
| <i>Rous</i> . Recherches sur le virus du sarcome de — passé en série sur l'œuf | 200 |
| <i>Salmonella</i> . Nature de l'antigène 0:27 | 463 |
| — Rôle des groupements O acétyls dans la spécificité du facteur 0:5. | 618 |
| — Une nouvelle espèce de — en provenance du Congo : <i>S. kivu</i> . | 812 |
| — Voir aussi <i>Typhoïde</i> (fièvre). | |
| <i>Sarcome</i> . Voir <i>Rous</i> . | |
| <i>Serpents</i> . Variations saisonnières de la composition du sang de <i>Vipera aspis</i> | 539 |
| <i>Sol</i> . Interactions microorganismes-maïs en culture hydroponique. | 243 |
| — Evolution de la microflore totale des landes armoricaines après incendie | 545 |
| — Activité microbiologique des sables de quelques groupements végétaux du littoral du Pas-de-Calais..... | 638 |

| | |
|--|------------|
| <i>Spore</i> . Répartition de la matière minérale dans la — de <i>Bacillus cereus</i> | 828 |
| <i>Staphylocoque</i> . Modalités d'action de quelques substances bactériostatiques étudiées par la méthode des courbes de croissance. | 427 |
| — Mutations d'une souche de <i>Staph. aureus</i> vers la résistance à l'érythromycine avec perte de prophages | 553 |
| — Répartition et fréquence relative des différents types de souches de — pathogènes isolées en France | 713 |
| — Action du jeûne et de la cortisone sur la sensibilité de la souris à l'infection | 814 |
| <i>Streptolysine</i> . L'inhibition non spécifique de la — 0 | 765 |
| <i>Sulfamide</i> . Action antibactérienne | 71 |
| — Action sur la synthèse des protéines bactériennes | 81 |
| <i>Syphilis</i> . L'incubation locale de <i>Sp. pallida</i> dans la — du lapin. | 1 |
| — Comparaison des réactions classiques et de la fixation du complément avec l'antigène protéique de Reiter | 190 |
| <i>Tolérance</i> . La — immunologique à l'égard d'antigènes définis. | 265 |
| <i>Trachome</i> . Recherches expérimentales sur la chimiothérapie .. | 93 |
| <i>Tularémie</i> . Présence dans le sérum de <i>Testudo graeca</i> d'anticorps agglutinant <i>Pasteurella tularensis</i> | 261 |
| <i>Tumeurs</i> . — spontanées sur racines de légumineuses stériles ; leur signification possible dans la symbiose à <i>Rhizobium</i> .. | 358 |
| <i>Typhoïde (fièvre)</i> . Toxicité et virulence comparées des formes S et R de <i>S. typhi</i> sur embryon de poulet | 344 |
| — Courbes d'agglutinines chez les lapins immunisés par différents vaccins antityphoïdiques | 406 |
| <i>Vaccins</i> . Voir <i>Typhoïde (fièvre)</i> . | |
| <i>Ver à soie</i> . Virulence comparée pour le — — — de quelques variétés de <i>B. cereus</i> et de leurs inclusions cristallines | 290 |
| <i>Virus paragrippaux</i> . Effet cytopathogène de <i>Myxovirus parainfluenzae</i> | 337 |
| — Voir aussi aux différents virus. | |
| <i>Welchia perfringens</i> . Effet comparé de l'adrénaline et du facteur déchaînant sur les cultures. II et III. | 315 et 470 |
| <i>Yaourt</i> . voir <i>Mycobactéries</i> . | |

TABLE DES OUVRAGES PRÉSENTÉS OU REÇUS

DU TOME 100

| | |
|--|-----|
| BERGER (U.). — <i>Die Treponemen der Mundhöhle und ihre Bedeutung für die Pathogenese der oralen Furospirochäten</i> | 696 |
| BERTRAND (D.). — <i>Le magnésium et la vie</i> | 551 |
| BROCKINGTON (F.). — <i>The health of the community</i> | 832 |
| Ciba Foundation Study Group n° 4. <i>Virus virulence and pathogenicity</i> | 552 |
| Comité d'experts de la tuberculose. O. M. S. 7 ^e Rapport | 400 |
| Comité d'experts des maladies vénériennes et des tréponématoses. O. M. S. 5 ^e Rapport | 264 |
| Comité mixte FAO/OMS d'experts de l'hygiène du lait. 2 ^e Rapport. | 264 |
| Controlled clinical trials | 551 |
| CORNUET (P.). — <i>Maladies à virus des plantes cultivées et méthodes de lutte</i> | 130 |
| ERRERA (M.) et FORSSBERG (A.). — <i>Mechanisms in radiobiology. Vol. II</i> | 264 |
| FLORKIN (M.). — <i>Unity and diversity in biochemistry</i> | 138 |
| FLORKIN (M.) et MASON (H. S.). — <i>Comparative biochemistry</i> | 694 |
| FOURMAN (P.). — <i>Calcium metabolism and the bone</i> | 831 |
| GENZ (H.). — <i>Die sozialhygienische Bedeutung der Toxoplasmose</i> . | 831 |
| GODDARD (H.-A.). — <i>Principes d'administration des services infirmiers. Monographie O. M. S.</i> | 400 |
| GRABAR (P.) et BURTIN (P.). — <i>Analyse immuno-électrophorétique. Applications aux liquides biologiques humains</i> | 550 |
| Groupe d'étude de l'épidémiologie du cancer du poumon. Rapport O. M. S. | 264 |
| HELLER (J. H.). — <i>Reticuloendothelial structure and functions</i> ... | 834 |
| HEREMANS (J.). — <i>Les globulines sériques du système γ ; leur nature et leur pathologie</i> | 139 |
| JACOBS (M. B.) et GERSLEIN (M.). — <i>Handbook of microbiology</i> | 694 |

| | |
|--|-----|
| JANSENS (A. J.). — <i>Synthetic analgesics. — I. Diphenylpropylamines</i> | 695 |
| LISON (L.). — <i>Histochimie et cytochimie animales. Principes et méthodes</i> | 140 |
| <i>Lobund Reports. Grem free life studies</i> | 138 |
| <i>Proceedings of the second international conference on medical electronics</i> | 264 |
| MESROBEANU (L.) et PAUNESCU (E.). — <i>Fiziologie bacteriana</i> | 696 |
| NICOLLE (Ch.). — <i>Destin des maladies infectieuses</i> | 832 |
| PAUL (J.). — <i>Cell and tissue culture</i> | 833 |
| PICKEN (L. E. R.). — <i>The organization of cells and other organisms</i> . .. | 695 |
| POPIAK (G.). — <i>Biochemistry of lipids</i> | 400 |
| SCHILLING (R. F. S.). — <i>Modern trends in occupational health</i> | 694 |
| VERNE (J.). — <i>Précis d'histologie</i> | 831 |
| WAGNER (E. G.) et LANOIX (J. N.). — <i>Evacuation des excreta dans les zones rurales et les petites agglomérations. Monographie O. M. S.</i> | 400 |

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

Publiées par

LA DIRECTION DE L'INSTITUT PASTEUR

Avec le concours

DES CHEFS DE SERVICE ET DES CHEFS DE LABORATOIRE

Secrétaire général : J. Fournier

